

**Universidade de Lisboa**  
**Faculdade de Medicina Dentária**



**Influência dos polimorfismos da IL-1 na doença  
periodontal**

**Ana Catarina Leonardo**

**Dissertação**

**Mestrado Integrado em Medicina Dentária**

**2015**

**Universidade de Lisboa**  
**Faculdade de Medicina Dentária**



**Influência dos polimorfismos da IL-1 na doença  
periodontal**

**Ana Catarina Leonardo**

**Dissertação orientada por Prof<sup>ª</sup>. Doutora Susana Noronha**

**Mestrado Integrado em Medicina Dentária**

**2015**

## **Agradecimentos**

À minha orientadora, Professora Doutora Susana Noronha agradeço pelo rigor, exigência, e principalmente por toda a disponibilidade, apoio e motivação que me concedeu ao longo da realização deste trabalho. Tenho em si um exemplo a seguir e um enorme orgulho por ter tido o privilégio de consigo privar.

Ao meu colega, e namorado Pedro Pimenta, pela paciência infinita, compreensão, encorajamento e carinho demonstrado durante todo este período.

Aos meus pais e irmão, por me terem dado sempre força para lutar por aquilo em que acredito. Obrigada por serem o meu refúgio.

Aos meus amigos, aqueles que se revelaram à altura de uma amizade desafiante, com todas as ausências a que este curso obrigou.

À Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa e a tudo o que vivenciei nesta instituição, as frustrações, os êxitos e a paixão pela Medicina Dentária.

## Resumo

**Introdução:** A periodontite é uma doença infecciosa associada à acumulação de placa bacteriana levando à destruição dos tecidos de suporte do dente. No entanto, embora centenas de milhões de bactérias colonizem continuamente as superfícies dentárias ao longo da vida, nem todos os indivíduos apresentam evidências de destruição periodontal. Factores relacionados com a predisposição do indivíduo para manifestar a doença podem influenciar o início, a progressão e as características desta desordem associada à placa bacteriana.

**Objetivo:** O presente trabalho tem como objectivo realizar uma revisão da literatura relativa à associação entre os polimorfismos da IL-1 e a severidade e progressão da doença periodontal crónica.

**Metodologia:** Foi realizada pesquisa manual em fontes de informação secundárias (livros e revistas científicas) disponíveis na biblioteca da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa e na base de dados primária MEDLINE (através do motor de busca PubMed) até Março de 2015, filtrada para língua inglesa, utilizando a seguinte palavra chave: ("periodontal disease" OR "periodontitis") AND ("interleukin-1" OR "IL-1") AND ("polymorphism" OR "haplotypes").

**Resultados:** Foram seleccionados 31 artigos, dos quais 20 estudos caso-controlo, 3 estudos observacionais transversais, 3 meta-análises, 2 revisões sistemáticas e 2 revisões narrativas. De uma forma geral 12 estudos encontraram correlação dos polimorfismos da IL-1A (-889), IL-1A (+4845), IL-1B (-511), IL-1B (-3954), IL-1RN VNTR e principalmente do genótipo composto com a doença periodontal crónica. No entanto, outros resultados controversos dificultaram a obtenção de resultados devido à variabilidade do status tabágico, idade e etnias entre e inter-estudos.

**Conclusão:** Esta revisão sugere evidências de associação entre os polimorfismos da IL-1 e a severidade e progressão da doença periodontal crónica. No entanto, é necessário a realização de mais estudos com ajuste das principais variáveis de confusão (status tabágico, quantidade de placa bacteriana, idade e etnia), bem como estratificação do fenótipo clínico de forma a obter resultados comparáveis entre estudos.

**Palavras-chave:** genética; polimorfismos; IL-1; genótipo composto; periodontite crónica;

## Abstract

**Introduction:** Periodontitis is an infectious disease associated with plaque accumulation, leading to the destruction of the tooth supporting tissue. However, although hundreds of millions of bacteria colonize the tooth surfaces continuously throughout life, not all individuals have evidence of periodontal destruction. Factors related to the predisposition of the individual to manifest the disease can influence the onset, progression and characteristics of this disorder associated with bacterial plaque.

**Objective:** This study aims to carry out a review of the literature on the association between IL -1 polymorphisms and the severity and progression of chronic periodontal disease.

**Methodology:** A manual search was performed on secondary information sources (books and scientific journals ) available in the library of the Faculty of Dental Medicine, University of Lisbon and primary database MEDLINE (via PubMed search engine ) until March 2015 , filtered for English language, using the following password: ("periodontal disease" OR "periodontitis") AND ("interleukin -1" OR "IL -1") AND ("polymorphism" OR "haplotypes").

**Results:** 31 articles were selected, including 20 case- control studies, 3 cross observational studies, 3 Meta-analyzes, 2 systematic reviews and two 2 narrative reviews. Generally, 12 studies found a correlation of polymorphisms of IL -1A ( -889 ) , IL -1A ( +4845 ) IL -1B ( -511 ) IL -1B ( -3954 ) , IL- 1RN VNTR and especially the genotype compound of chronic periodontal disease. However, other controversial results, made difficult to obtain results due to variability in smoking status, age and ethnic groups among and between studies.

**Conclusion:** This review suggests evidence of an association between IL -1 polymorphisms and the severity and progression of chronic periodontal disease. However, further studies with adjustment to the main confounding variables (smoking status, amount of plaque, age and ethnicity) is required, as well as, stratification of clinical phenotype in order to obtain comparable results between studies.

**Keywords:** genetics; polymorphisms; IL-1; composite genotype; chronic periodontitis;

## Índice Geral:

Agradecimentos.....	i
Resumo .....	ii
Abstract.....	iii
Índice Geral .....	iv
Lista de abreviaturas .....	vi
1. Introdução.....	1
2. Objectivo .....	4
3. Metodologia .....	4
4. Evidência do papel da genética na etiopatogénese da doença periodontal .....	4
4.1. Estudos em gémeos.....	5
4.2. Estudos de Agregação familiar .....	6
4.2.1. Heritabilidade da periodontite agressiva .....	6
4.2.2. Heritabilidade da Periodontite crónica .....	6
5. Relação da Genética com a doença periodontal.....	7
5.1. Definição de gene .....	7
5.2. Doenças genéticas.....	7
5.2.1. Doenças Mendelianas simples.....	8
5.2.2. Doenças genéticas complexas .....	8
5.3. Definição de Mutação e Polimorfismo .....	9
5.4. Tipos de mutações .....	9
5.5. Genes modificadores da doença periodontal .....	10
5.6. O papel das citocinas .....	10
5.7. A interleucina-1 (IL-1).....	11
5.7.1. Grupo de genes da IL-1 .....	11
5.7.2. IL-1 $\alpha$ e IL-1 $\beta$ .....	11
5.7.3. IL-1Ra.....	12
6. Polimorfismos dos genes da IL-1 .....	12
6.1. IL-1A (-889) C/T .....	17
6.2. IL-1A (+ 4845) G/T .....	18
6.3. IL-1B (-511) T/C .....	19
6.4. IL-1B (-3954) C/T .....	20

6.5. Genótipo composto .....	21
6.6. IL-1RN VNTR.....	23
7. Discussão.....	24
8. Conclusão .....	30
Bibliografia.....	31
Anexos .....	39

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

PC - Periodontite crónica

PI – Periodontite inicial

PM – Periodontite moderada

PS – Periodontite severa

S – Saúde periodontal

PA – Periodontite agressiva

FGC – Fluido gengival crevicular

IL-1 – Interleucina-1

MZ – Monozigóticos

DZ – Dizigóticos

L – Localizada

G- Generalizada

N – alelo normal

R – alelo raro



## 1. Introdução

A periodontite é uma doença infecciosa associada à acumulação de placa bacteriana sobre as superfícies dentárias supra ou subgengivais levando à destruição dos tecidos de suporte do dente (Gomez *et al.*, 2009; Nikolopoulos *et al.*, 2008). Os factores relacionados com a predisposição do indivíduo podem influenciar o início, a progressão e as características da doença (D'Aiuto *et al.*, 2004; Lindhe *et al.*, 2010).

Armitage (1999) classificou a periodontite em quatro categorias: periodontite crónica (PC); periodontite agressiva (PA); periodontite como manifestação de doenças sistémicas; e periodontite necrosante. As formas mais comuns de periodontite podem ser incluídas em duas grandes categorias, a PC e PA (Armitage 1999; Flemming 1999). A validade do actual sistema de classificação, que foi desenvolvido de forma a superar inconsistências associadas à classificação de 1989, ainda não está universalmente aceite. Segundo Stabholz *et al.*, até a etiologia e patogénese da doença periodontal ser totalmente compreendida, a comunidade de periodontologistas vai continuar a debater e a rever a classificação (Stabholz *et al.*, 2010).

A PC é bastante comum afectando 30% dos adultos (Nares *et al.*, 2003). É iniciada pela acumulação de placa bacteriana no sulco gengival levando a uma resposta inflamatória – gengivite induzida por placa. A gengivite é uma condição reversível, mas se não tratada pode progredir para periodontite (Kinane e Hart 2003; Schatzle *et al.*, 2003). A sua taxa de progressão, na maioria dos casos, é lenta e moderada, no entanto podem ocorrer períodos de rápida destruição (Socransky *et al.*, 1984).

A PA é menos frequente, afectando 7-13% da população. Compreende um grupo de situações clínicas de progressão rápida, raras e frequentemente graves, muitas vezes caracterizadas pela idade precoce da manifestação clínica e uma tendência distinta a desenvolver-se numa mesma família (Tonetti e Mombelli 1999). A PA implica, habitualmente uma infecção com uma microflora altamente virulenta e/ou um alto nível de susceptibilidade do indivíduo para a doença periodontal (Lang *et al.*, 1999).

Todas as doenças periodontais são infecções causadas por microrganismos (Karimbux *et al.*, 2012). Estima-se que cerca de 700 espécies de diferentes microrganismos são capazes de colonizar a cavidade oral e um indivíduo pode conter mais de 150 espécies diferentes. Residem em biofilmes o que lhes proporciona um ambiente protector e oferece propriedades metabólicas que não seriam possíveis se as espécies existissem na sua forma platónica (Saarela *et al.*, 1993; Preus *et al.*, 1994). A

associação das bactérias no interior dos biofilmes não é aleatória existindo associações específicas entre espécies (Socransky *et al.*, 1998).

Apesar de muitas bactérias terem a capacidade de destruição directa dos tecidos periodontais, a maioria dos estudos refere que o tecido conjuntivo do hospedeiro é principalmente destruído por mecanismos de defesa do próprio indivíduo (Grigoriadou *et al.*, 2010). Assim, a destruição do ligamento periodontal e do osso alveolar subjacente é influenciada pela resposta imunitária do hospedeiro ao desafio bacteriano (Heitz-Mayfiels 2005).

A presença de bactérias no periodonto desencadeia um processo imunológico e inflamatório com expressão de citocinas que actuam nos tecidos gengivais de forma a evitar que os microorganismos e os seus produtos invadam os tecidos. Esta resposta inflamatória do indivíduo, induzida por bactérias, parece desempenhar um papel crucial na patogénese da doença periodontal (Birkedal-Hansen, 1993; D'Aiuto *et al.*, 2004; Grigoriadou *et al.*, 2010). A reacção inflamatória é visível, tanto clínica como microscopicamente, no periodonto afectado, verificando-se um aumento do fluxo de fluído gengival crevicular (FGC), transmigração aumentada de leucócitos para o tecido conjuntivo e epitélio juncional (maioritariamente por plasmócitos), diminuição de colagénio, substituição do epitélio juncional por epitélio da bolsa que não se encontra aderido à superfície dentária, permitindo uma migração apical do epitélio (perda de inserção), e destruição do ligamento periodontal e do osso subjacente. Assim, as reacções de defesa do hospedeiro são também consideradas nocivas ao próprio, contribuindo paradoxalmente para a perda de inserção conjuntiva que é observada na doença periodontal (Berglundh e Donati, 2005; Lindhe *et al.*, 2010).

Contudo, e embora centenas de milhões de bactérias colonizem continuamente as superfícies dentárias ao longo da vida, nem todos os indivíduos apresentam evidências de destruição periodontal. Este fenómeno acontece também com outras doenças infecciosas, nas quais um agente patogénico é necessário mas não suficiente para a manifestação da doença. Assim, a presença do agente microbiano (que se define como condição necessária) nem sempre é acompanhada por sinais ou sintomas característicos da doença (Hart & Kornman, 1997). As relações ecológicas entre a microbiota periodontal e o seu hospedeiro são, na sua maioria benignas, onde um equilíbrio entre o hospedeiro e os microorganismos é geralmente alcançado espontaneamente ou por meio de terapia. O desequilíbrio nesta relação hospedeiro-bactérias existe nas lesões destrutivas de periodontite e está relacionado com factores

predisponentes locais, ambientais e sistémicos (inatos ou adquiridos) que influenciam a resposta do hospedeiro (Lindhe *et al.*, 2010; Karimbux *et al.*, 2012). O desenvolvimento da doença pode assim depender de múltiplos e diferentes factores adicionais – factores de risco. É necessário estabelecer uma distinção entre um factor causal e um factor de risco. O efeito causal das bactérias na doença periodontal está bem estabelecido e não existem casos de periodontite em que um agente infeccioso não esteja envolvido (Stabholz *et al.*, 2010). Factor de risco indica um aspecto de comportamento pessoal, exposição ao meio ambiente ou uma característica inata ou hereditária que é notoriamente associada às condições relacionadas à doença (Hart & Kornman, 1997; Lindhe *et al.*, 2010). Assim, a existência de grupos de alto risco não pode ser explicada somente pela microbiologia, existindo factores de risco que desempenham um papel importante na etiologia da periodontite, ao alterar a resposta inflamatória e imunológica tanto local como sistémica (Hassel & Harris 1995). Segundo Borrell e Papapanou (2005) é feita a distinção entre factores de risco modificáveis (ambientais, adquiridos e comportamentais) que podem ser modificados por meio de intervenção, reduzindo a probabilidade de ocorrência da doença, e factores de risco não modificáveis, como a idade, o sexo, a raça/etnia e os polimorfismos genéticos (Berrell & Papapanou, 2005).

As evidências científicas atuais sugerem que os determinantes genéticos são modificadores significativos do fenótipo da doença periodontal (Michalowicz *et al.*, 1991; Kinane & Hart 2005). As variações genéticas podem afectar diferentes vias, estruturais e imunes, aumentando a susceptibilidade individual, onde muitos genes podem estar envolvidos (Zuccarello *et al.*, 2013; Kinane & Hart 2003).

A resposta inflamatória desempenha, claramente, um papel na patogénese da doença periodontal. Apesar de vários mediadores poderem influenciar o desenvolvimento da resposta inflamatória, as actividades biológicas da IL-1 podem ser responsáveis pela perda de inserção e reabsorção óssea (Nicklin *et al.*, 2002; Karimbux *et al.*, 2012). A resposta inflamatória parece ser “programada/conduzida” geneticamente e alguns indivíduos exibem uma maior secreção da IL-1 do que outros para o mesmo desafio microbiano (Huynh-Ba *et al.*, 2007). A maioria dos estudos transversais relata associações positivas entre os polimorfismos da IL-1 com a extensão e/ou gravidade da doença periodontal e uma porção significativa das variações nas manifestações clínicas e radiográficas de periodontite podem ser explicadas por factores genéticos. No entanto, os resultados não são inquestionáveis pois, as forças de associação relatadas não são uniformes entre populações (Hart & Kornman, 1997; Karimbux *et al.*, 2012).

A importância de esclarecer se a doença periodontal tem uma base genética consiste na possibilidade de essas informações terem valor no diagnóstico e no tratamento da doença periodontal.

## **2. Objectivo**

O presente trabalho tem como objectivo realizar uma revisão da literatura relativa à associação entre os polimorfismos da IL-1 e a severidade e progressão da doença periodontal crónica.

## **3. Metodologia**

Foi realizada pesquisa manual em fontes de informação secundárias (livros e revistas científicas) disponíveis na biblioteca da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa e na base de dados primária MEDLINE (através do motor de busca PubMed) até Março de 2015, filtrada para língua inglesa, utilizando a seguinte palavra chave: ("periodontal disease" OR "periodontitis") AND ("interleukin-1" OR "IL-1") AND ("polymorphism" OR "haplotypes"). Obteve-se um total de 143 artigos dos quais foram seleccionados segundo critérios de inclusão e exclusão previamente estabelecidos (anexo 1) 31 artigos: 20 estudos caso-controlo; 3 estudos observacionais transversais; 3 meta-análises; 2 revisões sistemáticas e 2 revisões narrativas.

## **4. Evidência do papel da genética na etiopatogénese da doença periodontal**

No passado pensava-se que a periodontite se desenvolvia em indivíduos com má higiene oral e gengivite, no entanto, o reconhecimento de que as bactérias são o factor etiológico da doença periodontal mas não são os únicos contribuintes que determinam a extensão e a gravidade da destruição periodontal mudou a linha de pesquisa para a determinação de factores genéticos que afectam a patogénese da doença (Johnson *et al.*, 1998).

Trott & Cross (1966) realizaram o primeiro estudo que permitiu deduzir que certos indivíduos têm um risco aumentado para a doença periodontal em comparação com outros indivíduos. Nesse estudo foram investigadas as principais razões para extracções dentárias em mais de 1800 indivíduos. Os números demonstraram que, em cada categoria de idade, a percentagem de dentes perdidos é maior que a percentagem de indivíduos que perderam dentes devido à doença periodontal. Ou seja, muitos dentes foram perdidos mas em relativamente poucos indivíduos (Trott & Cross, 1966). O

conceito de alto risco para o desenvolvimento de periodontite foi confirmado por outros estudos longitudinais. Num desses estudos, realizado por Burt *et al.*, foram observados 500 indivíduos com a dentição completa dos quais 167 foram reavaliados ao fim de 28 anos usando os mesmos critérios de avaliação. Em 1987, 22% dos indivíduos foram responsáveis por 77% dos dentes perdidos (Burt *et al.*, 1990). O mesmo fenómeno foi observado por um estudo realizado por Hirschfeld e Wasserman onde foram reexaminados 600 pacientes numa clínica privada após 22 anos da fase activa de tratamento. Verificaram que 300 pacientes não tinham perdido nenhum dente devido a doença periodontal, no entanto 23 pacientes tinham perdido entre 10 a 23 dentes. Para além disso dos 2139 dentes que tinham originalmente sido considerados de prognóstico questionável, 666 foram perdidos, dos quais 394 por um sexto dos pacientes (Hirschfeld & Wasserman, 1978). Numa população de Sri Lanka, sem acesso a cuidados de medicina dentária e a medidas de controlo de placa bacteriana, Løe *et al.* (1986) identificaram três subpopulações: um grupo sem progressão de destruição periodontal (11%), um grupo com progressão moderada de destruição periodontal (81%) e um grupo com rápida progressão de destruição periodontal (8%) (Løe *et al.*, 1986). Nestes estudos, o fato de uma proporção limitada da população ter um maior risco de desenvolver formas graves de periodontite sugere que os indivíduos não têm o mesmo risco para a doença (Lindhe *et al.*, 2010).

#### **4.1. Estudos em gémeos**

Através do fenómeno dos gémeos, em particular monozigóticos (MZ), a natureza forneceu ferramentas que possibilitam a análise das influências genéticas e ambientais na doença periodontal. Gémeos MZ são geneticamente idênticos e os gémeos dizigóticos (DZ) são geneticamente similares da mesma forma como irmãos e irmãs, partilhando aproximadamente 50% dos seus genes. As diferenças no fenótipo da doença entre gémeos MZ devem ser devido a factores ambientais, e entre gémeos DZ devido tanto a factores ambientais como genéticos (Hart & Kornman, 1994; Hodge *et al.*, 2001; Michalowics *et al.*, 1999; Kinane & Hart, 2003).

Um estudo realizado por Corey *et al.* com 4908 pares de gémeos, revelou que apenas cerca de 9% (116 MZ e 233 DZ) tinham história de periodontite (Corey *et al.*, 1993). No entanto, factores ambientais como o tabagismo não foram controlados neste estudo o que pode introduzir viés na procura de uma correlação entre gémeos. Por outro lado, Michalowicz *et al.* (1991), avaliaram 110 pares de gémeos com média de idade de

40 anos (variação de 16-70), incluindo 63 MZ, 33 DZ criados num mesmo ambiente familiar e 14 MZ criados separadamente. Verificaram que 38-82% da variabilidade das medidas periodontais da população pode ser atribuída a factores genéticos (Michalowicz *et al.*, 1991). Num estudo posterior com 117 pares de gémeos adultos (64 MZ e 53 DZ) Michalowicz *et al.* (2000) verificaram que gémeos MZ foram mais semelhantes do que gémeos DZ para todos os parâmetros clínicos periodontais e cerca de 50% da variação da manifestação da doença foi atribuída a factores genéticos, associação que permaneceu inalterada após incorporação na análise de co-variáveis comportamentais, tais como atendimento médico-dentário e tabagismo (Michalowicz *et al.*, 2000).

## **4.2. Estudos de Agregação familiar**

### **4.2.1. Heritabilidade da periodontite agressiva**

Grande parte do suporte para o papel genético na doença periodontal veio da periodontite agressiva, onde a agregação familiar é um dos principais critérios para o seu diagnóstico (Hart & Kornman, 1997; Kinane & Hart, 2003). Pode verificar-se que irmãos de pacientes com PA também sofrem frequentemente de periodontite (Carvalho *et al.*, 2009). Boughman *et al.* (1992) realizaram um estudo com 77 irmãos de 39 probandos com PA localizada (L) ou generalizada (G) e observaram que quase 50% dos irmãos também sofriam de PA (Boughman *et al.*, 1992). Numa pesquisa epidemiológica realizada por Loe e Brown (1986-87) nos EUA, avaliaram 11000 adolescentes com idades compreendidas entre os 14 e 17 anos e mostraram que a PA tem uma prevalência entre 0,16 e 2,49%. A elevada prevalência de PA em famílias parece sugerir um fundo genético para a doença (Loe & Brown, 1986/7). Outro estudo que incluiu 104 probandos com periodontite agressiva, que tinham pelo menos um familiar de 1º grau com exame clínico concluiu que o modo de transmissão mais provável da PA era autossómico dominante quer em toda a população do estudo, quer no sub-grupo negro e caucasiano, com penetrância de 70% em afro-americanos e 73% em caucasianos (Marazita *et al.*, 1994).

### **4.2.2. Heritabilidade da Periodontite crónica**

Existem poucos estudos realizados em famílias com periodontite crónica (PC). Num dos primeiros estudos realizados foi investigado a influência relativa de factores genéticos e ambientais em 241 famílias do Havaí com idades compreendidas entre os 14 e 60 anos e com um ambiente familiar comum. Os autores concluíram que os dados não

sugeriam uma heritabilidade significativa, e o ambiente familiar parecia ser o determinante da variação observada do estado periodontal (Chung *et al.*, 1977). Num outro estudo de Dowsett *et al.* (2002), analisaram a condição periodontal de uma população de Guatemala nunca tratada, que incluía 109 irmãos de 40 famílias com idades compreendidas entre os 35 e 60 anos. Não verificaram agregação familiar para a doença periodontal crónica, rejeitando a hipótese de existir uma heritabilidade significativa para a expressão da doença periodontal. No entanto, estes resultados podem ser devido a uma reduzida variabilidade genética dentro da amostra do estudo ou apenas pode indicar uma contribuição relativamente menor de factores genéticos em comparação com o papel dos factores ambientais para o fenótipo da doença (Dowsett *et al.*, 2002). Em contrapartida, Petit *et al.* (1994) seleccionaram 24 famílias, numa população holandesa, cada uma consistindo num indivíduo com periodontite crónica (a mulher ou o homem) com idades compreendidas entre os 30 e 50 anos, e entre um a três filhos com idades entre os 3 meses e 15 anos. Os resultados mostraram que nenhuma das crianças menores de cinco anos era afectada por periodontite, no entanto, no grupo etário dos 5-15 anos, 26,6% tiveram na dentição mista e/ou definitiva 1-5 locais com 1-3 mm de perda de inserção clínica (Petit *et al.*, 1994). Com base neste estudo pode sugerir-se que a periodontite crónica pode ter agregação familiar, onde uma criança cujo pai/mãe com periodontite crónica pode ter um maior risco de desenvolver doença periodontal (Lindhe *et al.*, 2010)

## **5. Relação da Genética com a doença periodontal**

### **5.1. Definição de gene**

Gene é a unidade fundamental da hereditariedade. Cada gene contém uma região codificante e uma região promotora. A região codificante contém vários tripletos – exões - que codificam a sequência de aminoácidos que vai formar a proteína. No entanto, dentro da região codificante existem áreas de DNA não codificante – intrões. A região promotora não é organizada em tripletos de nucleótidos, mas contém segmentos de nucleótidos essenciais para a regulação da transcrição da região codificante (Kinane & Hart, 2003; Lindhe *et al.*, 2010).

### **5.2. Doenças genéticas**

Os geneticistas têm tradicionalmente dividido as doenças genéticas em dois grandes grupos: doenças mendelianas simples e doenças genéticas complexas. A

distinção entre estes dois grupos baseia-se no padrão de transmissão da doença, no número de genes envolvidos e na forma pela qual os genes contribuem para o fenótipo global da doença (Kinane & Hart., 2003; Laine *et al.*, 2012).

### **5.2.1. Doenças Mendelianas simples**

As doenças Mendelianas seguem padrões previsíveis e, geralmente, simples de transmissão em que um único locus genético é o principal determinante do fenótipo da doença clínica. O fenótipo da doença ocorre assim numa ampla variedade de ambientes, manifestando-se de uma forma muito similar independentemente dos diferentes factores ambientais e de outros factores genéticos. Estas doenças seguem um modo de transmissão Mendeliana clássica (autossómica dominante, autossómica recessiva ou ligada ao cromossoma X) e normalmente a prevalência destas condições é rara (inferior a 0,1%). Desta forma, quando o gene responsável por uma doença mendeliana é identificado - doença monogénica -, torna-se possível desenvolver um teste de diagnóstico para identificar indivíduos que transportam a mutação responsável pela doença (Hart & Kornman., 1997; Kinane & Hart, 2003; Taba *et al.*, 2011; Laine *et al.*, 2012). A fibrose cística é um exemplo de doença hereditária autossómica recessiva, causada por uma mutação no gene regulador da condução transmembranar. Se um indivíduo for homozigótico para o alelo da doença, então irá ter fibrose cística (Lindhe *et al.*, 2010).

### **5.2.2. Doenças genéticas complexas**

As doenças genéticas complexas diferem das doenças Mendelianas simples em vários aspectos importantes. Estas são muito mais prevalentes, ocorrendo geralmente com uma frequência superior a 1% da população, não seguem um padrão simples de distribuição familiar, e os factores genéticos não são suficientes para o desenvolvimento da doença, pois dependem do resultado da interacção de múltiplos locus e de factores ambientais. Nas doenças Mendelianas, as mutações eliminam ou alteram o produto de um gene de forma tão significativa que interrompem processos biológicos importantes. As variantes genéticas nas doenças complexas que são menos destrutivas, e normalmente funcionam dentro do intervalo normal (Hart & Kornman, 1997; Kinane & Hart, 2003; Laine *et al.*, 2012).



### 5.3. Definição de Mutação e Polimorfismo

Nas doenças mendelianas a alteração de um único locus do gene – mutação – tem um grande impacto fisiológico e é determinante para doença. Para os genes modificadores da doença, as leis de Mendel não se aplicam, pois tanto indivíduos homozigóticos como heterozigóticos para determinado gene modificador da doença, podem não necessariamente desenvolver a doença. Nas doenças complexas, as variantes genéticas são chamadas de “polimorfismos genéticos”, e são formas variantes de um gene localizado num locus – alelos. Dois ou mais alelos num locus específico podem existir em consequência da evolução, podendo surgir a qualquer momento. Um locus polimórfico corresponde a um locus cujos alelos têm uma distribuição tal que a variante normal (alelo N) tem uma frequência menor que 99%. Assim, em casos de locus dialélicos, o alelo raro (alelo R) deve ter uma frequência maior que 1% na população. Muitas vezes estes polimorfismos genéticos não são uma etiologia directa da doença, mas são relatados por serem encontrados com maior frequência em indivíduos doentes quando comparados com indivíduos saudáveis. Depois de caracterizar o genótipo de vários indivíduos pode calcular-se a frequência dos alelos N e R da população em estudo e, quando diferente entre indivíduos doentes e saudáveis, pode ser identificado como associado à doença (Prince *et al.*, 1998; Chanock & Wacholder, 2002; Kinane & Hart, 2003).

Outros factores genéticos (interacções gene-gene) e/ou factores ambientais (interacções gene-ambiente) também precisam de estar simultaneamente presentes para a manifestação da doença. Como exemplo, exposições ambientais (tabaco, stress, etc.) também podem ser determinantes importantes se um alelo específico contribui para o aumento do risco da doença (Kinane & Hart, 2003).

### 5.4. Tipos de mutações

As mutações que dão origem aos polimorfismos podem ser: num único par de bases (*single nucleotide polymorphism* SNP ); em dois, três ou quatro nucleótidos repetidos (STR); ou de um número variado de bases repetidas que podem consistir em centenas de pares de bases (VNTR) (Vijayalakshimi *et al.*, 2010).

Nem todas as SNP são corrigidas podendo ser transmitidas para as gerações seguintes. No entanto, podem não ter nenhum efeito ou, por outro lado, ter efeitos biológicos relevantes. Por exemplo, se a substituição ocorrer na região codificante e

levar a uma substituição do aminoácido produzido, pode consequentemente alterar a estrutura da proteína e por sua vez alterar a sua função. Por outro lado, se a mutação ocorrer na região promotora de um gene, pode levar a alteração na regulação do gene com inibição ou redução da sua expressão ou a uma expressão excessiva do mesmo. Estas mutações SNP ocorrem com maior frequência do que qualquer outro tipo de polimorfismo genético, tendo uma frequência aproximada de 1 em cada 0,3-1 quilobase (Kb) (Taylor *et al.*, 2000; Lindhe *et al.*, 2010; Laine *et al.*, 2012).

### **5.5. Genes modificadores da doença periodontal**

A doença periodontal é uma doença complexa associada a múltiplos genes – poligénica – cada qual tendo uma contribuição de risco relativamente pequena para o processo da doença (Taylor *et al.*, 2000). Em geral existem três tipos de genes candidatos: funcionais, posicionais e de expressão. Os genes candidatos funcionais derivam do conhecimento prévio da sua função após estudos clínicos ou fisiológicos de indivíduos afectados; genes candidatos posicionais são seleccionados com base no envolvimento dos genes de um loci marcado por análise de ligação genética; e genes candidatos de expressão são determinados com base em diferenças na expressão de genes mediante microarrays (Zhang *et al.*, 2011; Yoshie *et al.*, 2007).

A investigação tem-se centrado na identificação de polimorfismos dos genes que codificam os componentes do sistema imunitário, tais como polimorfismos em regiões reguladoras das citocinas, pois estas têm um papel crucial na patogénese da periodontite (Sakellari *et al.*, 2006).

### **5.6. O papel das citocinas**

A presença de vários factores de virulência provenientes de bactérias pode activar a cascata inflamatória estimulando a produção de várias citocinas de forma a proteger os tecidos da invasão microbiana e restabelecer a homeostasia natural. As citocinas pró-inflamatórias são proteínas secretadas pelas células actuando como mensageiros ao transmitir sinais para outras células. Elas iniciam, medeiam e controlam as respostas imunes e inflamatórias e regulam o crescimento e diferenciação celular. São, assim, reguladores chave das respostas do hospedeiro à infecção bacteriana (Kornman *et al.*, 1997; Nicklin *et al.*, 2002). Uma vasta gama de citocinas pró-inflamatórias é produzida pelas células gengivais como, a interleucina-1 (IL-1), o factor de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), a interleucina-6 (IL-6) e interferão- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) e citocinas

anti-inflamatórias como, a interleucina-4 (IL-4) e interleucina-10 (IL-10). Um aumento na produção de tais citocinas pode causar vários graus de destruição periodontal podendo ser realmente prejudicial para o hospedeiro. Desta forma, o resultado das interações bactéria-hospedeiro pode resultar na destruição do tecido periodontal se no curso desse processo elevadas quantidades de mediadores inflamatórios forem libertados. Assim, a variação dos níveis de citocinas pode supostamente representar a susceptibilidade à doença periodontal (Huynh-Ba *et al.*, 2007; Trevilatto *et al.*, 2010; Deng *et al.*, 2012). Os polimorfismos genéticos em regiões reguladoras dos genes responsáveis pelos mediadores inflamatórios podem criar diferenças entre indivíduos nas respostas imunitárias e por isso foram relacionados com um aumento do risco para a periodontite (Huynh-Ba *et al.*, 2007).

### **5.7. A interleucina-1 (IL-1)**

A IL-1 é uma citocina pró-inflamatória que desempenha um papel importante em várias doenças crônicas, incluindo a periodontite crônica. Entre os genes candidatos para a periodontite, os polimorfismos do gene da IL-1 têm sido amplamente investigados quanto à sua relação com a doença (Grigoriadou *et al.*, 2010; Trevilatto *et al.*, 2010).

#### **5.7.1. Grupo de genes da IL-1**

O conjunto de genes da IL-1 encontra-se no braço longo do cromossoma 2 (2q13), e contém três genes relacionados (IL-1A, IL-1B, IL-1RN) dentro de uma região de 439 kb que codificam para as citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\alpha$  (forma de membrana), IL-1 $\beta$  (forma segregada) e IL-1ra (antagonista do receptor da IL-1B), respectivamente (Armitage *et al.*, 2000; McDevitt *et al.*, 2000; Deng *et al.*, 2012).

#### **5.7.2. IL-1 $\alpha$ e IL-1 $\beta$**

A IL-1 $\alpha$  IL-1 $\beta$  são ambas produzidas por macrófagos, monócitos, células dendríticas, queratinócitos, células do músculo liso e células endoteliais (Cullian *et al.*, 2001). A IL-1 $\alpha$  é em grande parte um regulador de eventos intracelulares e um mediador da inflamação local, enquanto a IL-1 $\beta$  é uma proteína extracelular libertada pelas células, sendo a forma mais patogénica. São activadores primários de citocinas quimiotáticas, estimulam a secreção de metaloproteinases da matriz, imunoglobulinas G2 (IgG2) e prontanglandinas E2 (PGE2), estimulam a expressão de moléculas de

adesão para a diapedese de leucócitos, bem como são consideradas dos maiores estimuladores da actividade osteoclástica (Birkedal-Hansen 1993; Deng *et al.*, 2012). Assim, funções vitais, como o recrutamento da resposta imune celular, proliferação celular, destruição tecidual e reabsorção óssea são afectadas pela IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Vários estudos têm demonstrado níveis mais elevados destas citoquinas no FGC dos tecidos gengivais de indivíduos com doença periodontal (Dominici *et al.*, 2002; Shirodaria *et al.*, 2000).

### **5.7.3. IL-1Ra**

A IL-1ra liga-se aos receptores da IL-1 $\beta$  sem induzir a transdução de sinal, agindo como um antagonista da IL-1 $\beta$ , uma vez que inibe a sinalização intracelular, desempenhando um papel anti-inflamatório endógeno importante quer na fisiologia quer nos estados patológicos. Sugeriu-se, que um desequilíbrio entre a IL-1 $\beta$  e IL-1Ra pode influenciar as reacções inflamatórias na doença periodontal (Symons *et al.*, 1995; Berdeli *et al.*, 2005;).

## **6. Polimorfismos dos genes da IL-1**

Polimorfismos da IL-1 de um único nucleótido (SNP), com a substituição única dos pares de base C/T no promotor da IL-1A (-889) e no locus IL-1B (+3954) foram precocemente relacionados com a doença periodontal (Kornman *et al.*, 1997). Os polimorfismos genéticos da IL1 que foram estudados em relação à periodontite foram: IL1A (-889) ou IL1A (+4945), IL1B (-511), IL1B (+3954) e IL1RN VNTR (tabela 1).

**Tabela 1: Genótipo da IL-1 e doença periodontal crônica**

Estudo	Tipo	Etnia/ País	Casos PC (N)	F alelo R casos (%)	Variantes genéticas da IL-1	F alelo R controle (%)	Controle (N)	Status tabágico	Associação IL1-PC
<b>Karasneh <i>et al.</i>, 2010</b>	Caso-controle	Jordânia	<b>100</b> Idade média 43,43	40,5 31 41 7,5	IL1A(-889) IL1B (+3954) IL1B (-511) IL1RN VNTR	33,7 28,1 38,8 18,1	<b>80</b> Idade média 22,28	Fumadores e não fumadores	Encontrada associação entre o alelo N do gene IL-1RN VNTR e PC mas e sem correlação do polimorfismo de IL-1A e IL-1B.
<b>Sakellari <i>et al.</i>, 2003</b>	Caso-controle	Caucasiana (Grécia)	<b>45</b> Idade média 55	34,4 31,1 44	IL1A (+4845) IL1B (-3954) Genótipo +	26,8 29,1 39	<b>110</b> Idade média 25	Não fumadores	Sem associação entre os polimorfismos da IL-1A, IL-1B, e genótipo composto com a PC.
<b>Sakellari <i>et al.</i>, 2006</b>	Caso-controle	Caucasian os (Grécia)	<b>56</b> Idade média 51	<b>A1/A2</b> 38 32 34 28	IL1A (+4845) IL1B (+3954) Genótipo + IL1RN VNTR	<b>A1/A2</b> 39 39 30 22	<b>90</b> Idade média 44	Fumadores e não fumadores	Sem associação entre os polimorfismos de IL-1 investigados e PC.
<b>Trevilatto <i>et al.</i>, 2010</b>	Caso-controle	Brasil Caucasian os 77,2% Afro- americanos 11,5% Mulatos 10,5% Japoneses 0,8%	<b>69</b> PM/ PS Idade média 36,9	29/25 13/15,8 56/58 24/24	IL1A (-889) IL1B (+3954) IL1B (-511) IL1RN VNTR	30,7 21,6 64,8 18,2	<b>80</b> S Idade média 43,2	Não fumadores	Encontrada associação entre o genótipo 2/2 IL1RN com PC e correlação do alelo N da IL1B (-511) apenas em afro-americanos e mulatos. Sem correlação dos polimorfismos IL1A (-889) e IL1B (+3954).
<b>Zuccarello <i>et al.</i>, 2013</b>	Caso-controle	Caucasian os (Itália)	<b>101</b> Idade média 53	55 44 93	IL1A (-889) IL1B (+3954) IL1RN VNTR	38 36 92	<b>105</b> Idade média 25	Fumadores e não fumadores	Sem associação entre os polimorfismos de IL-1 investigados e PC.

<b>Kornman et al., 1997</b>	Caso-controlo	Caucasian os (Norte da Europa)	<b>85</b> PM/PS Idade média NF	62/56 62/63 48/46 - 33/49	IL1A (-889) IL1B (-511) IL1B(-3954) Genótipo + IL1RN VNTR	38,8 55,1 40,8 - 59	<b>49</b> PI Idade média NF	Fumadores e não fumadores	Encontrada associação do genótipo composto com a <b>gravidade</b> da PC em não fumadores. Sem associação entre os polimorfismos IL-1A, IL-1B e IL-1RN e PC.
<b>Bascones-Martinez et al., 2012</b>	Caso-controlo	Espanha	<b>25</b> Idade média 41,96	<b>A1/A2</b> 28 32 32	IL1A (+4845) IL1B (+3954) Genótipo +	<b>A1/A2</b> 44 48 40	<b>25</b> Idade média 36,56	Não-fumadores ou ex-fumadores (>5 anos)	Sem associação entre os polimorfismos investigados e PC.
<b>Agrawal et al., 2006</b>	Caso-controlo	Indianos	<b>90</b> PI/PM/PS Idade média NF	6/23/33 10/33/40 3/13/30	IL1A (+4845) IL1B (+3954) Genótipo +	3 10 0	<b>30</b> S Idade média NF	Não fumadores	Encontrada associação entre o polimorfismo IL1A (+4845), IL1B (+3954) e genótipo com a PC.
<b>Papapanou et al., 2001</b>	Caso-controlo	Caucasian os	<b>132</b> Idade média 52	- - 41,7	IL-1A (+4845) IL-1B (-3954) Genótipo +	- - 45,2	<b>73</b> Idade média 49,6	Fumadores e não fumadores	Encontrada associação entre o polimorfismo IL-1A (+4845), IL-1B (-3954) e genótipo composto com a <b>gravidade</b> da doença periodontal em indivíduos não fumadores com a doença confirmada.
<b>Gore et al., 1998</b>	Caso-controlo	Caucasian os	<b>32</b> PI+PM/PS Idade média 43,3	<b>A1/A2</b> 35/33 30/58 50/41	IL1A (-889) IL1B (-3954) IL1B (-511)	<b>A1/A2</b> 25 25 50	<b>32</b> S Idade média 41,9	Fumadores e não fumadores	Encontrada associação do polimorfismo IL-1B (+3954) com a <b>gravidade</b> da doença periodontal. Sem associação dos polimorfismos IL-1A (-889) e IL1B (-511) com PC.
<b>Gayathiri et al., 2011</b>	Caso-controlo	Índia	<b>51</b> Idade média 40,9	38 17 38	IL1A (+4845) IL1B (+3954) Genótipo +	37 23 31	<b>52</b> Idade média 33,1	Não fumadores	Sem associação entre os polimorfismos investigados com PC
<b>Wagner et al., 2007</b>	Caso-controlo	Caucasian os	<b>97</b> Idade média 55	<b>A1/A2</b> 32 37	IL1A (-889) IL1B (+3954)	<b>A1/A2</b> 20 34	<b>97</b> Idade média 50	Não fumadores	Encontrada associação entre os polimorfismos IL1A (-889) e IL1B (+3954) com PC.

<b>Lopez <i>et al.</i>, 2005</b>	Caso-controlo	Chilenos	<b>330</b> Idade média 30	22,42 15,90 26,06	IL-1A (-889) IL-1B (+3954) Genótipo +	18,81 7,43 9,9	<b>101</b> Idade média 29	Fumadores e não fumadores	Encontrada associação entre o polimorfismo IL-1B (+3954) e o genótipo composto com a PC. Sem correlação entre o polimorfismo IL-1A (-889) e PC.
<b>Karthikeyan <i>et al.</i>, 2009</b>	Caso-controlo	India	<b>30</b> Idade 30-55	15	IL1B (+3954)	13	<b>31</b> Idade 30-55	Não fumadores	Sem associação entre o polimorfismo IL1B (+3954) e PC.
<b>Galbraith <i>et al.</i>, 1999</b>	Caso-controlo	Caucasian os	<b>20</b> PS Idade média 46,8	<b>A1/A2</b> 35 <b>A2/A2</b> 20	IL1B (+3954)	<b>A1/A2</b> 40 <b>A2/A2</b> 5	<b>20</b> G Idade média 48,4	Fumadores e não fumadores	Encontrada associação entre o genótipo T/T (A2/A2) da IL-1B (+3954) com a PC.
<b>Ferreira <i>et al.</i>, 2009</b>	Caso-controlo	Brasil 79,3% Caucasian os 20,7% afroamericanos	<b>117</b> PS Idade média 46,4	26,5	IL1B (+3954)	20	<b>175</b> S Idade média 41,5	Não fumadores	Sem associação entre o polimorfismo IL 1B (+ 3954) com a PC
<b>Moreira <i>et al.</i>, 2004</b>	Caso-controlo	Brasil	<b>52</b> Idade 27-67	Não Fumadores 28 Fumadores incluídos 25	IL1B (+3954)	Não Fumadores 8,7 Fumadores incluídos 11,3	<b>31</b> Idade 21-70	Fumadores e não fumadores	Encontrada associação entre o polimorfismo IL1B (+3954) com a PC em não fumadores bem como após inclusão dos fumadores.
<b>Moreira <i>et al.</i>, 2006</b>	Caso-controlo	Brasil	<b>67</b> Idade 25-67	Não fumadores 37,8 Fumadores incluídos 32,8	IL1A (-889)	Não Fumadores 18,4 Fumadores incluídos 20,7	<b>41</b> Idade 20-77	Fumadores e não fumadores	Encontrada associação entre o polimorfismo IL-1A (-889) e a PC em não fumadores bem como após inclusão dos fumadores.

<b>McDevitt et al., 2000</b>	Caso-controlo	Europeus	<b>44</b> PS < 50 anos de idade	41	Genótipo +	28	<b>46</b> S Idade média NF	Não fumadores e ex-fumadores (>5 anos, - 10 maços por ano)	Encontrada associação entre o genótipo composto e a <b>gravidade</b> da PC em indivíduos não fumadores ou ex-fumadores leves ( - 5 maços por ano).
<b>Berdeli et al., 2005</b>	Caso-controlo	Caucasian os (Turquia)	<b>51</b> Idade média 48,1	28,4	ILRN VNTR	2,6	<b>190</b> Idade média 44,5	Não-fumadores	Encontrada associação entre o polimorfismo IL-1RN VNTR 2 com PC.
<b>Armitage et al., 2000</b>	Observacional transversal	Chinesa	300 S/PI/PM/PS Idade média 49	17 3,3 2,3	IL1A (+4845) IL1B (+3954) Genótipo +	- - -	-	Fumadores e não fumadores	Sem associação entre o polimorfismo IL-1A (+4845), IL-1B (+3954) e genótipo composto com a PC.
<b>Meisel et al., 2002</b>	Observacional transversal	Caucasian os	154  Idade 35 – 75	<b>A1/A2</b> 77 40 43,5 28	IL1A (-889) IL1B (+3954) Genótipo + IL1RN VNTR	- - - -	-	Fumadores e não fumadores	Encontrada associação entre o genótipo composto com a <b>gravidade</b> da doença periodontal em fumadores. Sem correlação dos polimorfismos IL-1A e IL-1B.
<b>Meisel et al., 2004</b>	Observacional transversal	Caucasian os	<b>490</b> Idade 40 – 60	Não fumadores 23,2 Fumadores 71%	Genótipo +	Não fumadores 28,84 Fumadores 27%	<b>520</b> Idade 40 – 60	Fumadores e não fumadores	Sem associação entre o genótipo composto e a PC em não fumadores, mas em fumadores o genótipo composto aumentou o risco de periodontite.

Legenda: (F) Frequência; (Alelo R) Alelo raro; (Alelo N) Alelo normal; (PC) Periodontite crónica; (+) genótipo composto; (S) Saúde periodontal; (G) Gengivite; (PI) Periodontite inicial; (PM) Periodontite moderada; (PS) Periodontite severa; (NF) – dados não fornecidos; (A1/A2) Heterozigótico para o alelo R – N/R; (A2/A2) Monozigótico para o alelo R – R/R



### 6.1. IL-1A (-889) C/T

A alteração C/T no promotor da IL-1A (-889) é 99% concordante com a alteração G/T da IL-1A (+4945) no exão 5 (Grigoriadou *et al.*, 2010). O alelo T (também chamado de alelo R ou alelo 2) revelou um aumento até quatro vezes da expressão da IL-1 $\alpha$  no FGC (Shirodaria *et al.*, 2000). Além disso, o genótipo CC de IL-1A (-889) tem sido associado com uma actividade de transcrição significativamente menor do gene e, por isso, níveis mais baixos da IL-1 $\alpha$  são verificados no plasma em comparação com o genótipo TT (Kornamn *et al.*, 1997). Vários estudos têm mostrado o significado funcional da região promotora do gene IL-1A (-889) para a regulação da expressão da IL-1 $\alpha$ . O aumento da síntese da IL-1 $\alpha$  pode ser resultado de um promotor mais activo, uma vez que o polimorfismo cria um local de ligação para pelo menos, um novo factor de transcrição, SKn-1 (Dominici *et al.*, 2006).

Nove estudos incluídos na revisão forneceram dados sobre a associação entre o polimorfismo da IL-1 $\alpha$  (-889) C/T e a doença periodontal crónica. Destes, cinco foram realizados em populações caucasianas (Zuccarello *et al.*, 2013; Wagner *et al.*, 2007; Meisel *et al.*, 2002; Kornman *et al.*, 1997; Gore *et al.*, 1998;), dois em populações brasileiras (Trevilatto *et al.*, 2010; Moreira *et al.*, 2006), um numa população da Jordânia (Karasneh *et al.*, 2010) e por último um estudo realizado numa população chilena (Lopez *et al.*, 2005).

Em caucasianos, a prevalência do alelo R variou entre 32% e 60% no grupo de pacientes caso e entre 18,6% e 38,8 % no grupo de pacientes controlo. Quatro estudos não verificaram diferenças significativas na prevalência do alelo 2 da IL-1A (-889) entre os grupos caso e controlo (Zuccarello *et al.*, 2013; Meisel *et al.*, 2002; Kornman *et al.*, 1997; Gore *et al.*, 1998). Zuccarello *et al.*, (2013) avaliaram 206 indivíduos (101 com PC e 105 saudáveis) e verificaram não existir diferenças significativas na frequência do alelo R entre os grupos caso e controlo (55% e 38% respectivamente) (Zuccarello *et al.*, 2013). Apenas um estudo mostrou diferenças significativas na distribuição dos genótipos, com 55% do genótipo T/T no grupo de pacientes com PC e 33% no grupo controlo (Wagner *et al.*, 2007).

Nos dois estudos realizados em populações brasileiras, a prevalência do alelo 2 foi de 25% e 37,8% no grupo de pacientes caso e 30,7% e 18,4% no grupo controlo respetivamente. Trevilatto *et al.*, (2010) não verificaram diferenças significativas na distribuição do alelo R entre os grupos (P moderada: 29%; P. severa: 25%; controlo:

30,7%), ao contrário de Moreira *et al.*, (2006) que encontraram uma frequência de 37,8% nos pacientes caso e 18,4% no grupo controle em não fumadores (Trevilatto *et al.*, 2010; Moreira *et al.*, 2006).

Karasneh *et al.* (2010) avaliaram 260 indivíduos da Jordânia (100 com PC, 80 com PA e 80 controles) onde a frequência do alelo 2 foi semelhante nos grupos com PC e controle (40,5% e 33,7 respectivamente) (Karasneh *et al.*, 2010). Da mesma forma, na população chilena não se verificaram diferenças significativas na prevalência do alelo T entre os dois grupos com uma distribuição de 22,42% e 18,81% respectivamente (Lopez *et al.*, 2005).

Em suma, apenas dois estudos mostraram existir correlação entre o polimorfismo IL-1A (-889) e a PC. A existência de resultados contraditórios, não permite clarificar a associação entre o polimorfismo IL-1A -889 e a PC. No entanto, o alelo R tende a ser mais frequente nos indivíduos com periodontite crônica, à exceção estudo de Trevilatto *et al.* (2010).

## **6.2. IL-1A (+ 4845) G/T**

Do total de estudos avaliados, 7 avaliaram o efeito do polimorfismo G/T da IL-1A (+4845) no desenvolvimento da PC. Destes, 3 foram realizados em caucasianos (Papapanou *et al.*, 2001; Sakellari *et al.*, 2003; Sakellari *et al.*, 2006), 2 numa população indiana (Agrawal *et al.*, 2006; Gayathiri *et al.*, 2011), 1 numa população chinesa (Armitage *et al.*, 2000), e por último, 1 estudo realizado numa população espanhola (Bascones-Martinez *et al.*, 2012).

A prevalência do alelo T foi superior em populações caucasianas (45,8%-56,4%) do que em populações indianas (16,66%-38%) e chinesas (17%).

Nos estudos realizados em populações caucasianas apenas um estudo mostrou existir associação entre o polimorfismo da IL-1A (+4854) e a gravidade da doença periodontal. Neste estudo, os autores avaliaram 205 indivíduos divididos em dois grupos, 132 com doença periodontal e 73 com saúde periodontal. Não verificaram diferenças significativas na frequência do alelo R entre os dois grupos, no entanto, dentro do grupo com doença periodontal, a frequência do alelo T mostrou estar relacionada com a gravidade da doença, apresentando maior frequência nos casos de periodontite mais grave (Papapanou *et al.*, 2001).

Nos estudos realizados em outras populações, 3 não detectaram diferenças significativas nas frequências alélicas e/ou dos genótipos entre os grupos caso e

controle (Gayathiri *et al.*, 2011; Armitage *et al.*, 2000; Bascones-Martinez *et al.*, 2012). Em contraste, Agrawal *et al.*, (2006) avaliaram 120 indivíduos de origem indiana, divididos em quatro grupos com 30 indivíduos cada (controle, periodontite inicial, periodontite moderada e periodontite severa). A frequência do alelo R da IL-1 (+4845) foi sucessivamente maior desde o grupo de indivíduos saudáveis (3%), para aqueles com periodontite leve (6%), moderada (23,33%) e severa (33,3%) (Agrawal *et al.*, 2006).

Resumidamente, enquanto dois estudos demonstram que os indivíduos com o alelo R do gene IL-1B na posição + 3954 têm um risco aumentado para o desenvolvimento ou agravamento da periodontite, a maior parte dos estudos não demonstraram tal associação.

### **6.3. IL-1B (-511) T/C**

Apenas 4 estudos avaliaram a associação entre o polimorfismo IL-1B (-511) e a doença periodontal. Dois foram realizados em populações caucasianas e não identificaram diferenças na frequência do alelo R e N entre os grupos caso e controle (Kornman *et al.*, 1997; Gore *et al.*, 1998). Da forma semelhante, num estudo realizado numa população da Jordânia não observaram diferenças de distribuição dos alelos entre os dois grupos (Karasneh *et al.*, 2010).

Por último, um estudo realizado por Trevilatto *et al.*, numa população do Sudoeste do Brasil avaliou 113 indivíduos não fumadores, 77,2% caucasianos, 11,5% negros, 10,5% mulatos e 0,8% japoneses que foram divididos em três grupos (controle, PM e PS). Não verificaram diferenças na frequência do alelo R e N entre os grupos. No entanto, após a análise de acordo com a etnia, verificaram que afro-americanos e mulatos relatavam maior frequência do alelo N nos grupos com periodontite moderada (78,5%) e severa (62,5%) quando comparado com o grupo controle (25%), associando assim, o alelo N da IL-1B -511 com a doença periodontal em negros e mulatos (Trevilatto *et al.*, 2010).

Devido ao número limitado de estudos e controvérsia dos resultados apresentados não é possível estabelecer uma correlação entre o alelo R ou N da IL-1 (-511) com a doença periodontal.

#### 6.4. IL-1B (-3954) C/T

Foi descrito que o polimorfismo do gene IL-1B (+3954) C/T (anteriormente conhecido como IL-1B +3953) mostrou ser mais frequente em caucasianos, influenciando a produção de IL-1 $\beta$  por monócitos *in vitro*, o que resulta num aumento da produção desta citocina. Um aumento dos níveis de IL-1 $\beta$  no soro foi assim, associado ao alelo T (Deng *et al.*, 2012). Desta forma, uma possibilidade plausível para associação do polimorfismo do gene IL-1B (+3954) com a doença periodontal baseia-se no facto deste influenciar directamente a patogénese da doença através de um efeito sobre a síntese da IL-1 $\beta$ , em que a expressão exacerbada pode levar a uma maior inflamação e destruição dos tecidos (Lang *et al.*, 2000).

No total 19 artigos avaliaram o papel do polimorfismo C/T da IL-1B (- 3954) na doença periodontal, dos quais 9 foram realizados em populações caucasianas (Papapanou *et al.*, 2001; Sakellari *et al.*, 2006; Zuccarello *et al.*, 2013; Sakallari *et al.*, 2003; Wagner *et al.*, 2007; Galbraith *et al.*, 1999; Meisel *et al.*, 2002; Kornman *et al.*, 1997; Gore *et al.*, 1998), 3 em populações brasileiras (Trevilatto *et al.*, 2010; Ferreira *et al.*, 2009; Moreira *et al.*, 2005), outros 3 em populações indianas (Karthikeyan *et al.*, 2009; Agrawal *et al.*, 2006; Gayathiri *et al.*, 2011), e por último um estudo com uma população da Jordânia (Karasneh *et al.*, 2010), chinesa (Armitage *et al.*, 2000), chilena (Lopez *et al.*, 2005) e espanhola (Bascones-Martinez *et al.*, 2012).

Em caucasianos a prevalência do alelo R variou entre 31%-44% nos grupos caso e entre 25%-40,8% nos grupos controlo. Na população chilena essa frequência foi mais reduzida, com 15,9% no grupo caso e 7,43% no grupo controlo (Lopez *et al.*, 2005). Apenas 3,3% de toda a população chinesa do estudo de Armitage *et al.* (2000) transportava o alelo R (Armitage *et al.*, 2000).

Quatro estudos realizados em caucasianos observaram uma relação entre o polimorfismo IL-1B (-3954) com a doença periodontal crónica (Papapanou *et al.*, 2001; Wagner *et al.*, 2007; Galbraith *et al.*, 1999; Gore *et al.*, 1998). Galbraith *et al.* avaliaram 20 indivíduos com gengivite e 20 indivíduos com doença periodontal severa e verificaram uma maior frequência do genótipo T/T no grupo com periodontite severa (20%) quando comparado com o grupo controlo (5%) (Galbraith *et al.*, 1999). Gore *et al.* avaliaram 32 indivíduos com periodontite (20 com periodontite inicial a moderada; 12 com periodontite severa) e 32 indivíduos saudáveis. Entre o grupo de indivíduos com periodontite e o grupo controlo não verificaram diferenças significativas na distribuição dos genótipos, no entanto, observaram maior frequência do genótipo C/T e T/T nos

indivíduos com periodontite severa (58% e 9%) quando comparado com os indivíduos com periodontite leve a moderada (30% e 0%). Em contrapartida, 5 estudos não encontraram associações significativas entre o polimorfismo IL-1B (-3954) e a PC em caucasianos (Sakellari *et al.*, 2003; Sakellari *et al.*, 2006; Zucarello *et al.*, 2013; Meisel *et al.*, 2002; Kornman *et al.*, 1997). Sekallari *et al.* (2006) estudaram a relação de 5 polimorfismos genéticos com a doença periodontal numa população de 192 indivíduos divididos em dois grupos (saudáveis e doentes periodontais), onde incluiu o estudo do polimorfismo da IL-1B (+3954). Não encontraram diferenças na distribuição dos diferentes genótipos IL-1B (+3954) entre o grupo com periodontite (CT: 32% e CC: 9%) e o grupo controlo (CT: 39% e CC: 5%) (Sekallari *et al.*, 2006).

Nos 10 estudos realizados em outras populações, apenas 3 encontraram associação entre o polimorfismo IL-1B (-3954) e a doença periodontal (Agrawal *et al.*, 2006; Moreira *et al.*, 2005; Lopez *et al.*, 2005). Moreira *et al.* (2005) avaliaram 129 pacientes que foram estratificados em três grupos: 46 com PA, 52 com PC e 31 saudáveis. Em não fumadores observaram diferenças significativas na distribuição do alelo R entre o grupo com PC (28%) e o grupo controlo (8,7%). Após a inclusão dos fumadores na análise uma maior frequência do alelo T continuou a ser observada no grupo com PC (25%) quando comparado com o grupo controlo (11,3%) (Moreira *et al.*, 2005). Em contrapartida, os restantes 7 estudos não encontraram correlação significativa entre o polimorfismo IL-1B (-3954) e a doença periodontal crónica (Karasnheh *et al.*, 2010; Trevilatto *et al.*, 2010; Ferreira *et al.*, 2009; Kaarthikeyan *et al.*, 2009; Gaythiri *et al.*, 2011; Armitage *et al.*, 2000; Bascones-Martinez *et al.*, 2012).

Em suma, os resultados dos artigos incluídos parecem promissores na correlação do polimorfismo da IL-1 $\beta$  (+3954) com a doença periodontal crónica, principalmente em caucasianos, no entanto, são ainda contraditórios.

### **6.5. Genótipo composto**

O genótipo composto foi identificado por Kornman *et al.*, em 1997 e caracteriza-se pela presença de 2 alelos em simultâneo no grupo de genes polimórficos: IL-1A (-889) ou o seu concordante IL-1A (+4845) e IL-1B (+3953) (Kornman *et al.*, 1997). Desde então, numerosos estudos têm vindo a avaliar o papel do genótipo composto onde tentam correlacionar várias condições periodontais ou com a presença do genótipo composto ou com a presença de um dos alelos de IL-1A ou IL-1B.

A influência do genótipo composto sobre a prevalência e severidade da doença periodontal foi avaliada em 12 estudos, dos quais 5 foram realizados em populações caucasianas (Papapanou *et al.*, 2001; Sakellari *et al.*, 2006; Sakellari *et al.*, 2003; Kornman *et al.*, 1997; Meisel *et al.*, 2002; Meisel *et al.*, 2004), um estudo numa população do Norte da Europa (McDevitt *et al.*, 2000) e outros 6 em outras populações já mencionadas (Agrawal *et al.*, 2006; Gayathiri *et al.*, 2011; Armitage *et al.*, 2000; Lopez *et al.*, 2005; Bascones-Martinez *et al.*, 2012).

A frequência do genótipo composto foi mais elevada em populações caucasianas (29% a 43,%) do que em populações indianas (11% a 35%), chilenas (21%) e chinesas (2,3%).

Dos 6 estudos realizados em populações caucasianas, 4 mostraram existir correlação entre o genótipo composto e a doença periodontal (Papapanou *et al.*, 2001; Meisel *et al.*, 2002; Meisel *et al.*, 2004; Kornman *et al.*, 1997). Kornman *et al.*, (1997) foi o primeiro estudo a correlacionar o polimorfismo da IL-1 com a periodontite crónica numa população caucasiana não fumadora. Nesse estudo, avaliaram 134 indivíduos, divididos em três categorias (49 com PI, 42 com PM e 43 com PS) e verificaram que para alelos simples da IL-1A (-889) ou IL-1B (-3954) não existiram diferenças na frequência do alelo R entre os três grupos. No entanto, uma associação forte foi encontrada em não fumadores quando os dois alelos polimórficos (IL-1A -889 e IL-1B +3954) estavam presentes em simultâneo (genótipo composto) (Kornman *et al.*, 1997). Em contraste, dois estudos de Meisel *et al.* (2002) e Meisel *et al.* (2004) encontraram associação entre o genótipo composto e a doença periodontal em fumadores. Meisel *et al.* (2004) verificaram que indivíduos fumadores e portadores do genótipo positivo acentuaram o risco de desenvolver periodontite (71% nos casos e 27% no grupo controlo), em comparação com indivíduos fumadores com genótipo negativo (20,4% e 13% respectivamente) e não fumadores com genótipo positivo (23,2% e 28,84% respectivamente) (Meisel *et al.*, 2004). Apenas dois estudos mostraram não existir uma correlação entre o genótipo composto e a doença periodontal em caucasianos (Sakellari *et al.*, 2003; Sakellari *et al.*, 2003). Sakellari *et al.* (2003) compararam 110 estudantes de origem grega da Universidade de Medicina Dentária Aristotle University com status periodontal desconhecido com outros 45 indivíduos não fumadores que se encontravam a receber tratamento periodontal no departamento de periodontologia da mesma faculdade. Sakellari *et al.* (2006) analisaram 192 pacientes fumadores e não fumadores divididos em 3 grupos (90 saudáveis, 56 com PC e 46 com PA). Ambos os estudos não

verificaram diferenças na frequência do genótipo composto entre os grupos caso e controlo (Sakellari *et al.*, 2003; Sakellari *et al.*, 2003).

Dos 6 estudos realizados noutras populações 3 identificaram correlação entre o genótipo composto e a doença periodontal (Agrawal *et al.*, 2006; McDevitt *et al.*, 2000; Lopez *et al.*, 2005). McDevitt *et al.*, (2000) analisaram 90 pacientes numa clínica privada da Geórgia, não fumadores ou ex fumadores há mais 5 anos e com menos de 10 maços por ano. Os pacientes foram estratificados em dois grupos, 46 saudáveis ou com PI e 44 com PM a PS. Verificaram uma maior frequência do genótipo positivo no grupo de indivíduos com periodontite moderada a severa quando comparado com o grupo de indivíduos saudáveis ou com periodontite leve em não fumadores ou ex-fumadores leves (menos de 5 maços/ano) (McDevitt *et al.*, 2000). Em contraste, outros 3 estudos não mostraram diferenças significativas na prevalência do genótipo composto entre os grupos caso e controlo (Bascones-Martinez *et al.*, 2012; Armitage *et al.*, 2000; Gayathiri *et al.*, 2011). Armitage *et al.*, (2000) avaliaram 300 voluntários de origem chinesa com idades compreendidas entre os 21-69 anos e verificaram que apenas 2,3% (N:7) dos 300 pacientes transportavam o genótipo composto. Os 7 pacientes com o genótipo composto apresentavam todos periodontite, dos quais 4 de forma severa. No entanto, o tamanho da amostra teria de ser aumentada para ser possível obter uma associação genótipo-doença (Armitage *et al.*, 2000).

Em suma, 7 estudos relataram existir associação entre o genótipo composto e a doença periodontal crónica. De uma forma geral, a associação dos polimorfismos da IL-1 foi mais forte quando os dois alelos, IL-1A (-889) ou IL-1A (+4845) e IL-1B (+3954) estão presentes em simultâneo quando comparado com a presença dos alelos individualmente (Kornman *et al.*, 1997; Lopez *et al.*, 2005; McDevitt *et al.*, 2000; Meisel *et al.*, 2002; Meisel *et al.*, 2004).

## **6.6. IL-1RN VNTR**

O gene IL-1RN contém um polimorfismo de 86 pb no intrão 2 com um número variável de repetições em tandem (VNTR) que resulta em cinco alelos diferentes, um alelo curto com duas repetições (ILRN VNTR 2 ou alelo 2) e alelos longos com 3 a 6 repetições (IL-1RN VNTR 3-6) (Berdeli *et al.*, 2005; Sakellari *et al.*, 2006; Ding *et al.*, 2012). A relação entre estes alelos e a doença periodontal (especialmente o alelo 2) não tem sido estudada tão amplamente como o genótipo composto, no entanto, até à data, muitos estudos de associação têm mostrado resultados conflitantes sobre a relação

entre estes polimorfismos com a susceptibilidade à doença periodontal (Ding *et al.*, 2012). Danis *et al.* em 1995 demonstraram que o alelo 2 se encontrava associado com um aumento da produção da proteína IL-1Ra e também reduziu a produção da proteína IL-1 $\beta$  por monócitos (Danis *et al.*, 1995). Num outro estudo, realizado por Hurme e Santtila em 1998, demonstraram que portadores do alelo 2 do gene IL-1RN tinham níveis de IL-1Ra mais elevados do que os não portadores. (Hurme e Santtila, 1998). Por outro lado, verificou-se que a presença do alelo 2 estava associada com uma maior produção de IL-1 $\beta$  e diminuição da produção de IL-1Ra in vitro (Santtila *et al.*, 1998).

Apenas 7 estudos avaliaram a relação do alelo R da IL-1RN VNTR com a doença periodontal e os resultados revelaram-se contraditórios; a prevalência varia de 7,5%-93% nos grupos caso e entre 2%-92% nos grupo controlo.

Cinco estudos foram realizados em caucasianos dos quais 4 não encontraram correlação entre o alelo 2 e a doença periodontal (Sakellari *et al.*, 2006; Zuccarello *et al.*, 2013; Meisel *et al.*, 2002; Kornmam *et al.*, 1997). Em contrapartida, Berdeli *et al.* analisaram um total de 293 indivíduos caucasianos (52 com PA, 51 com PC e 190 controlo) onde verificaram uma maior frequência do alelo 2 nos pacientes com PC (28,4%) em comparação com o grupo controlo (2,6%) (Berdeli *et al.*, 2006). Trevilatto *et al.*, não encontraram diferenças significativas na distribuição dos alelos e genótipos entre os grupos. No entanto, quando o grupo controlo e com periodontite moderada foram analisados em conjunto e comparados com o grupo com periodontite severa, encontraram maior frequência do genótipo 2/2 no grupo com periodontite severa (10,5%) do que no grupo controlo e periodontite moderada (0%) (Trevilatto *et al.*, 2006). Em contraste Karasneh *et al.*, observaram que o alelo N da IL1RN era mais frequente no grupo de pacientes com periodontite crónica (90%) quando comparado com o grupo controlo (74,7%) (Karasneh *et al.*, 2010).

Em suma, existem dados inconsistentes e contraditórios sobre a associação dos polimorfismos de IL-1RN VNTR com a doença periodontal crónica.

## **7. Discussão**

O efeito etiológico das bactérias na doença periodontal está bem estabelecido, e de facto, a prevalência e a proporção de patógenos periodontais é maior em pacientes periodontais quando comparado com controlos saudáveis. No entanto, se a periodontite fosse simplesmente causada por uma ou mais bactérias, a doença deveria estar presente em todos os indivíduos infectados por esses microorganismos e uma alta prevalência de



patógenos periodontais não deviam ser encontrados em indivíduos com gengivite ou periodontite leve (Lindhe *et al.*, 2010). Os factores genéticos e ambientais são os principais determinantes para diferenças fenotípicas da doença periodontal entre os indivíduos. A extensão da contribuição genética, nomeadamente dos polimorfismos da IL-1 para a doença periodontal têm implicações importantes na identificação de uma etiologia de base genética e para a utilização dessas informações para o diagnóstico e tratamento da doença (D'Aiuto *et al.*, 2004).

Os estudos sobre a relação dos polimorfismos da IL-1 com a produção de IL-1 $\beta$  por monócitos no FGC têm tido resultados controversos, sem diferenças estatisticamente significativas (Galbraith *et al.*, 1999; Bascones-Martinez *et al.*, 2012) ou com um aumento de produção consoante os genótipos da IL-1 (Gore *et al.*, 1998).

Os resultados revistos são contraditórios no entanto, parecem promissores na correlação dos polimorfismos da IL-1A (-889), IL-1A (+ 4845), IL-1B (-511), IL-1B (-3954), IL-1RN VNTR e do genótipo composto com a doença periodontal crónica. Vários estudos observaram uma associação entre estes polimorfismos e a doença periodontal quando os fumadores são excluídos (Kornman *et al.*, 1997; Papapanou *et al.*, 2001; Wagner *et al.*, 2007; Agrawal *et al.*, 2006; Moreira *et al.*, 2004; Moreira *et al.*, 2006; McDevitt *et al.*, 2000; Berdeli *et al.*, 2005). Moreira *et al.* (2004) avaliaram o polimorfismo da IL-1 $\beta$  (+3954) e Moreira *et al.* (2006) o polimorfismo IL-1 $\alpha$  (-889) numa população brasileira onde, no grupo com periodontite crónica 23,1% (Moreira *et al.*, 2004) e 44,8% (Moreira *et al.*, 2006), eram fumadores e no grupo controlo apenas 0% e 7,3% respectivamente. A associação destes polimorfismos com PC foi mais evidente quando os indivíduos fumadores foram excluídos dos grupos de estudo, o que confirma a importância deste factor de risco mesmo em indivíduos que não são geneticamente susceptíveis, pois a perda de inserção pode estar relacionada com actividade de fumar e não com o genótipo (Moreira *et al.*, 2004; Moreira *et al.*, 2006). O tabagismo é um factor de risco importante para o estabelecimento da doença periodontal, desta forma, é natural, que os estudos tenham descoberto uma correlação mais forte dos polimorfismos da IL-1 quando os fumadores são excluídos do estudo, ou quando são estratificados e analisados separadamente dos não fumadores (Kaarthikeyan *et al.*, 2009). O efeito do tabagismo na doença periodontal é significativo mesmo em indivíduos que não são geneticamente susceptíveis à doença, ou seja, indivíduos fumadores podem desenvolver formas mais graves de periodontite e não transportar o/s alelo/s R, levando a associações menos evidentes quando estes indivíduos fazem parte

dos estudos. No entanto, dois estudos observaram um efeito maior do genótipo da IL-1 em indivíduos fumadores, e em não fumadores essa associação não foi significativa (Meisel *et al.*, 2002; Meisel *et al.*, 2004). Parece razoável avaliar possíveis interações de ambos os factores de risco – tabaco e polimorfismos da IL-1. Alguns estudos revistos não avaliaram o efeito dos polimorfismos da IL-1 segundo o status tabágico (Karasneh *et al.*, 2010; Sakellari *et al.*, 2006; Gore *et al.*, 1998; Galbraith *et al.*, 1999). Karasneh *et al.*, (2010), avaliaram 100 indivíduos com PC (27% fumadores) e 80 indivíduos saudáveis (17% fumadores). A análise da amostra por status tabágico não foi realizada, para além disso, o grupo de indivíduos com PC consistia principalmente em doentes de gravidade leve e moderada, com apenas 7 indivíduos com formas graves de doença periodontal, existindo assim, poucas diferenças fenotípicas entre o grupo caso e controlo capazes de mostrar associação entre estes polimorfismos e a gravidade da doença periodontal (Karasneh *et al.*, 2010). Gore *et al.* (1998) estudaram a correlação de 3 polimorfismos numa população de 32 indivíduos com periodontite (fumadores e não fumadores) e 32 indivíduos controlo com status tabágico não determinado. Verificaram apenas correlação do polimorfismo da IL-1 $\beta$  (+3954) quando compararam o grupo com periodontite severa com o grupo com periodontite leve e moderada, mas não verificaram associação quando comparado com o grupo controlo (Gore *et al.*, 1998). Galbraith *et al.* (1999) estudam a correlação do polimorfismo da IL-1 $\beta$  (+3954) onde avaliaram 20 indivíduos com periodontite (15 fumadores) e 20 indivíduos saudáveis (3 fumadores). Encontraram apenas correlação do genótipo T/T pois a variante heterozigótica (T/C) não mostrou estar relacionada com a PC (Galbraith *et al.*, 1999). O número de indivíduos fumadores foi bastante mais elevado no grupo com PC (N:15) quando comparado com o grupo controlo (N:3) e sendo o tabaco um factor de risco associado à doença periodontal, indivíduos podem desenvolver periodontite, ou apresentar formas mais graves desta doença associada ao tabaco e não à presença de polimorfismos da IL-1. Para além disso, o tamanho das amostras em ambos os estudos é pequena para poder obter resultados credíveis (Gore *et al.*, 1998; Galbraith *et al.*, 1999). Zuccarello *et al.* (2013), avaliaram três polimorfismos genéticos (IL-1A -889, IL-1B +3954 e IL1RN VNTR) numa população de 101 indivíduos com periodontite (média de idade 53 anos) e 105 indivíduos com saúde periodontal (média de idade 25 anos). Não encontraram diferenças significativas na distribuição dos alelos R entre os dois grupos mesmo após a análise dos resultados segundo a variável “fumador e não fumador” (Zuccarello *et al.*, 2013). No entanto, não mencionam como foi realizada a divisão dos

indivíduos pelos grupos “fumador” e “não fumador”, ou como foram incluídos os ex-fumadores e há quanto tempo deixaram de fumar, para além disso existe uma grande diferença na média de idades entre o grupo caso e o grupo controlo (53 e 25 anos respectivamente). O facto de indivíduos saudáveis serem positivos para o alelo 2 não significa que estes não possam vir a desenvolver a doença anos mais tarde. O mesmo se verificou no estudo de Sakellari *et al.* (2003), numa população caucasiana onde a idade média dos dois grupos é bastante diferente, com 55 para o grupo caso e 25 para o grupo controlo. Além disso no grupo controlo foram incluídos indivíduos com status periodontal desconhecido. Os autores também não verificaram diferenças de distribuição dos alelos de IL-1A (+4845), IL-1B (-3954) e genótipo composto entre os dois grupos (Sakellari *et al.*, 2003).

A frequência dos alelos da IL-1 varia entre grupos étnicos e raciais, e por isso, vários estudos têm encontrado resultados contraditórios quando realizados sem distinção de raças e etnias (Karasneh *et al.*, 2010; Gaythiri *et al.*, 2011; Kaarthikeyan *et al.*, 2009; Ferreira *et al.*, 2008).

De facto, em caucasianos, a prevalência destes polimorfismos foi de uma forma geral superior a outras populações, como a população chinesa. Armitage *et al.*, (2000) demonstraram incapacidade para determinar a susceptibilidade de indivíduos transportadores dos polimorfismos da IL-1 para a doença periodontal num estudo com 323 pacientes de origem chinesa. Este facto derivou de uma muito baixa frequência dos alelos R da IL-1A (+ 4845) , IL-1B (+3954) e do genótipo composto na população do estudo (17%, 3,3% e 2,3% respectivamente). Sugere-se assim, um efeito da raça sobre a frequência de detecção dos polimorfismos da IL-1 questionando a utilidade da sua identificação como marcador para a susceptibilidade da doença periodontal em indivíduos chineses (Armitage *et al.*, 2000). Desta forma, devido às diferentes prevalências dos alelos R nos diferentes grupos étnicos e raciais, os resultados de um estudo não podem ser extrapolados para a população em geral.

De uma forma geral os estudos mostraram que a presença do alelo R da IL-1 ocorre com maior frequência em indivíduos com formas mais graves de periodontite quando comparado com indivíduos saudáveis ou com formas leves da doença, apesar de em alguns estudos essa diferença não ser significativa (Karasneh *et al.*, 2010; Lopez *et al.*, 2005; Ferreira *et al.*, 2009; Zuccarello *et al.*, 2013; Gaythiri *et al.*, 2011; Kaarthikeyan *et al.*, 2009). No entanto, as dificuldades encontradas em obter resultados e conclusões resultaram de uma variabilidade nos critérios de atribuição dos indivíduos

nos grupos caso e controlo, variabilidade do status tabágico, idade e etnias da amostra e dimensões populacionais pequenas. Estes resultados estão de acordo com outras meta-análises, revisões sistemáticas e narrativas que foram anteriormente realizadas (Taylor *et al.*, 2004; Nikolopoulos *et al.*, 2008; Grigoriadou *et al.*, 2010; Laine *et al.*, 2012; Ding *et al.*, 2012; Deng *et al.*, 2012; Karimbux *et al.*, 2012; Mao *et al.*, 2013).

Numa revisão sistemática e meta-análise de Karimbux *et al.* (2012) que incluiu 35 artigos, os autores analisaram a correlação dos polimorfismos da IL-1 $\alpha$  (+4845) ou (-889), IL-1 $\beta$  (+3954) e genótipo composto apenas em populações caucasianas adultas devido às diferenças substanciais das frequências alélicas existentes noutras etnias. Embora a heterogeneidade estivesse presente, verificaram uma correlação dos polimorfismos da IL-1 com a PC, excepto numa pequena amostra ( $n < 100$ ). Outra revisão sistemática de Nikolopoulos *et al.*, (2008) também relatou um efeito estatisticamente significativo das variantes da IL-1 (-889), IL-1A (+ 4845), IL-1B (+3954), IL-1B (-511) na doença periodontal (Nikolopoulos *et al.*, 2008). Outra meta-análise avaliou a possível correlação do polimorfismo C/T da IL-1 $\alpha$  (+4845) com base em 23 estudos caso-controlo, onde observaram de uma forma geral associação do alelo R com um aumento da susceptibilidade para a PC. No entanto em populações mistas nenhuma associação foi observada (Mao *et al.*, 2013). Deng *et al.* (2012) realizaram uma meta-análise onde avaliaram a correlação do polimorfismo C/T da IL-1B (+3954) com a PC. A meta-análise incluiu 36 estudos, dos quais 16 em populações caucasianas, 15 em populações asiáticas, e 5 noutras populações perfazendo um total de 3095 casos e 2839 controles. Encontraram uma associação significativa entre o alelo R com a PC na população total do estudo, sugerindo que os portadores do alelo T, que inclui o genótipo C/T e T/T tinham 1,33 maior risco de desenvolver periodontite crónica do que os portadores do alelo C. Mostraram ainda que o genótipo T/T era capaz de aumentar o risco em 66%, apresentando maior risco de desenvolver periodontite crónica do que aqueles com genótipo C/C e C/T (Deng *et al.*, 2012). O impacto do polimorfismo IL-1RN VNTR foi também previamente avaliado por uma meta-análise que incluiu um total de 13 estudos caso-controlo, dos quais 5 foram realizados em populações caucasianas, 6 em populações asiáticas e 2 com populações mistas. O polimorfismo IL-1RN VNTR foi associado a um maior risco de PC na população geral e essa associação foi ainda mais significativa no grupo com periodontite severa (Ding *et al.*, 2012). Por outro lado, uma revisão sistemática de Huynh-Ba *et al.* (2007) teve como objectivo avaliar o efeito do genótipo composto na doença periodontal. Incluíram 11 artigos que

relataram falta de evidência para apoiar o uso do genótipo composto da IL-1 na identificação de indivíduos de alto risco pelo facto de a evidência ser demasiado fragmentada para permitir a realização de uma meta-análise.

É um princípio aceite de tratamento periodontal que o médico dentista deve avaliar o nível de risco individual para a doença periodontal e projectar a frequência e a extensão do apoio profissional necessário para a manutenção dos níveis de inserção clínica, e de forma a modificar o risco do paciente. Para pacientes mais susceptíveis é razoável que este deva ter um controlo mais apertado do que indivíduos menos susceptíveis (McDevitt *et al.*, 2000)

A justificação para a realização de um exame genético é inevitavelmente atraente, uma vez que é reconhecido que citocinas, como IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$  e o factor de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) desempenham um papel crucial na patogénese da doença periodontal (Galbraith *et al.*, 1999). Os testes de sensibilidade genética para a doença periodontal tornaram-se comercialmente disponíveis. Um resultado positivo do teste pode revelar a necessidade de uma terapêutica periodontal mais eficaz e uma remoção de placa bacteriana mais intensiva e frequente (Grigoriadou *et al.*, 2010). É preciso ter em conta que um factor de risco não se destina a medir a doença actual e um teste de sensibilidade positivo não é sinónimo de doença mas sim, uma indicação de risco futuro pois, um paciente com estas variantes genéticas não é automaticamente condenado à periodontite severa. Dada a natureza infecciosa e multifactorial da doença periodontal, vários factores para além da predisposição genética afectam o seu percurso clínico. Não se deve esperar que um único factor de risco se relacione com todos os casos de doença, como por exemplo, que todos os pacientes com periodontite severa sejam fumadores pesados ou diabéticos, no entanto, está bem estabelecido que os pacientes fumadores ou diabéticos mal controlados têm um risco aumentado para as formas avançadas de periodontite. É sempre necessário a presença de bactérias, e ao remover o factor etiológico primário melhora-se o efeito dos factores de risco. Nos diversos estudos, pacientes saudáveis apresentaram o alelo 2 da IL-1 reforçando o facto de que um factor de risco pode estar presente sem ser necessariamente associado à doença clínica e pode reflectir apenas o controle dos factores etiológicos da doença com uma remoção de placa bacteriana eficaz (Agrawal *et al.* 2006; McDevitt *et al.*, 2000; Ferreira *et al.*, 2008). Neste momento, as vantagens do teste são sugeridas para o incentivo de adesão do paciente de alto risco para uma terapêutica de manutenção e cessação tabágica. (Grigoriadou *et al.*, 2010).

## **8. Conclusão**

Estudos genéticos em doenças multifactoriais com características complexas, como a doença periodontal, são difíceis. A literatura é confusa e controversa na correlação dos polimorfismos da IL-1 com a doença periodontal. No entanto, apesar da complexidade da literatura esta revisão sugere evidências de associação entre os polimorfismos da IL-1 e a severidade e progressão da doença periodontal crónica, principalmente em populações caucasianas e não fumadoras. Obviamente, é necessário a realização de mais estudos com o objectivo de obter estimativas mais confiáveis. O ideal é que futuros estudos sejam realizados com critérios de inclusão e de exclusão bem definidos, com indivíduos não fumadores e com ajuste das principais variáveis de confusão como a quantidade de placa bacteriana, idade e etnia. O fenótipo clínico deve ser bem definido e com os casos de periodontite estratificados em leve, moderada e severa, obtendo assim, resultados comparáveis entre estudos. Por outro lado o tamanho das amostras deve ser suficientemente grande de forma a conferir um poder estatístico adequado.

Aumentar o conhecimento sobre os factores genéticos que predispõem para o aparecimento e agravamento da doença periodontal crónica poderá facilitar tanto na identificação como a prevenção de indivíduos de alto risco.

## Bibliografia

1. Agrawal AA, Kapley A, Yeltiwar RK, Purohit HJ. Assessment of single nucleotide polymorphism at IL-1A+4845 and IL-1B+3954 as genetic susceptibility test for chronic periodontitis in Maharashtrian ethnicity. *J Periodontol.* 2006 Sep;77(9):1515-21.
2. Armitage GC, Wu Y, Wang HY, Sorrell J, di Giovine FS, Duff GW. Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage. *J Periodontol.* 2000 Feb;71(2):164-71.
3. Armitage GC. Development of classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4: 1-6
4. Bascones-Martínez A, Valderrama G, Vijande F, Puyet-Catalina A, Bascones-Ilundain J, Arias-Herrera S, Garrido-Pertierra A. Interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal status in a Spanish population. *Mol Med Rep.* 2012 May;5(5):1335-9.
5. Berdeli A, Emingil G, Gürkan A, Atilla G, Köse T. Association of the IL-1RN2 allele with periodontal diseases. *Clin Biochem.* 2006 Apr;39(4):357-62. Epub 2006 Jan 19.
6. Berglundh T, Donati M. Aspects of adaptive host response in periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2005;32 Suppl 6:87-107.
7. Birkedal-Hansen H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res.* 1993 Nov;28(6 Pt 2):500-10.
8. Borrell LN, Papapanou PN. Analytical epidemiology of periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2005;32 Suppl 6:132-58.
9. Boughman JA, Astemborski JA, Suzuki JB. Phenotypic assessment of early onset periodontitis in sibships. *Journal of Clinical Periodontology.* 1992 Apr;19(4):233-9.
10. Burt BA, Ismail AI, Morrison EC, Beltran ED. Risk factors for tooth loss over a 28-year period. *Journal of Dental Research.* 1990 May;69(5):1126-30.
11. Carvalho FM, Tinoco EM, Govil M, Marazita ML, Vieira AR. Aggressive periodontitis is likely influenced by a few small effect genes. *J Clin Periodontol.* 2009 Jun;36(6):468-73
12. Chanock S, Wacholder S (2002). One gene and one outcome? No way. *Trends Mol Med* 8:266-269

13. Chung CS, Kau MC, Chung SS, Rao DC. A genetic and epidemiologic study of periodontal disease in Hawaii. II. Genetic and environmental influence. *American Journal of Human Genetics*. Jan;29(1):76-82.
14. Corey LA, Nance WE, Hofstede P, Schenkein HA. Self-reported periodontal disease in a Virginia twin population. *Journal of Periodontology*. 1993 Dec;64(12):1205-8
15. Cullian MP, Westerman B, Hamlet SM et al. A longitudinal study of interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal disease in a general adult population. *J clin Periodontol* 2001; 28: 1137-1144.
16. D'Aiuto, Parkar M, Brett PM, Ready D, Tonetti MS. Gene polymorphisms in pro-inflammatory cytokines are associated with systemic inflammation in patients with severe periodontal infections. *Cytokine*. 2004 Oct 7;28(1):29-34.
17. Danis VA, Millington M, Hyland VJ, Grennan D. Cytokine production by normal human monocytes: inter-subject variation and relationship to an IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphism. *Clin Exp Immunol*. 1995 Feb;99(2):303-10.
18. Deng JS, Qin P, Li XX, Du YH. Association between interleukin-1 $\beta$  C (3953/4)T polymorphism and chronic periodontitis: evidence from a meta-analysis. *Hum Immunol*. 2013 Mar;74(3):371-8. doi: 10.1016/j.humimm.2012.11.018. Epub 2012 Dec 7.
19. Ding C, Zhao L, Sun Y, Li L, Xu Y. Interleukin-1 receptor antagonist polymorphism (rs2234663) and periodontitis susceptibility: a meta-analysis. *Arch Oral Biol*. 2012 Jun;57(6):585-93.
20. Dominici R, Malferrari G, Mariani C, Grimaldi L, Biunno I. The Interleukin 1-beta exonic (+3953) polymorphism does not alter in vitro protein secretion. *Exp Mol Pathol*. 2002 Oct;73(2):139-41
21. Dowsett SA, Archila L, Foroud T, Koller D, Eckert GJ, Kowolik MJ. The effect of shared genetic and environmental factors on periodontal disease parameters in untreated adult siblings in Guatemala. *Journal of Periodontology*. 2002 Oct;73(10):1160-8.
22. Ferreira SB Jr, Trombone AP, Repeke CE, Cardoso CR, Martins W Jr, Santos CF, Trevilatto PC, Avila-Campos MJ, Campanelli AP, Silva JS, Garlet GP. An interleukin-1beta (IL-1beta) single-nucleotide polymorphism at position 3954 and red complex periodontopathogens independently and additively modulate



- the levels of IL-1beta in diseased periodontal tissues. *Infect Immun.* 2008 Aug;76(8):3725-34.
23. Flemmin TF (1999). Periodontitis. *Ann Periodontol* 4:32-38
  24. Galbraith GM, Hendley TM, Sanders JJ, Palesch Y, Pandey JP. Polymorphic cytokine genotypes as markers of disease severity in adult periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1999 Nov;26(11):705-9.
  25. Gayathri R, Saadi AV, Bhat KM, Bhat SG, Satyamoorthy K. Allele, genotype, and composite genotype effects of IL-1A +4845 and IL-1B +3954 polymorphisms for chronic periodontitis in an Indian population. *Indian J Dent Res.* 2011 Jul-Aug;22(4):612.
  26. Gomez RS, Dutra WO, Moreira PR. Epigenetics and periodontal disease: future perspectives. *Inflamm Res.* 2009 Oct;58(10):625-9.
  27. Gore EA, Sanders JJ, Pandey JP, Palesch Y, Galbraith GM. Interleukin-1beta+3953 allele 2: association with disease status in adult periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1998 Oct;25(10):781-5.
  28. Grigoriadou ME, Koutayas SO, Madianos PN, Strub JR. Interleukin-1 as a genetic marker for periodontitis: review of the literature. *Quintessence Int.* 2010 Jun; 41(6):517-25.
  29. Hart TC, Kornman KS. Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000.* 1997 Jun;14:202-15.
  30. Hassell TM, Harris EL. Genetic influences in caries and periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med* 1995 6:319-342
  31. Heitz-Mayfield LJ<sup>1</sup>. Disease progression: identification of high-risk groups and individuals for periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2005;32 Suppl 6:196-209.
  32. Hirschfeld L, Wasserman B. A long-term survey of tooth loss in 600 treated periodontal patients. *Journal of Periodontology.* 1978 May; 49(5):225-37.
  33. Hodge P, Michalowicz B. Genetic predisposition to periodontitis in children and young adults. *Periodontol 2000.* 2001;26(1):113-34.
  34. Hulkkonen J, Laippala P, Hurme M. A rare allele combination of the interleukin-1 gene complex is associated with high interleukin-1 beta plasma levels in healthy individuals. *Eur Cytokine Netw.* 2000 Jun;11(2):251-5.
  35. Hurme M, Santtila S. IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) plasma levels are coordinately regulated by both IL-1Ra and IL-1beta genes. *Eur J Immunol.* 1998 Aug;28(8):2598-602.

36. Huynh-Ba G, Lang NP, Tonetti MS, Salvi GE. The association of the composite IL-1 genotype with periodontitis progression and/or treatment outcomes: a systematic review. *J Clin Periodontol.* 2007 Apr;34(4):305-17.
37. Johnson NW, Griffiths GS, Wilton JM, Maiden MF, Curtis MA, Gillett IR, Wilson DT, Sterne JA. Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases. Evidence for the existence of high-risk groups and individuals and approaches to their detection. *J Clin Periodontol.* 1988 May;15(5):276-82.
38. Kaarthikeyan G, Jayakumar ND, Padmalatha O, Sheeja V, Sankari M, Anandan B. Analysis of the association between interleukin-1beta (+3954) gene polymorphism and chronic periodontitis in a sample of the south Indian population. *Indian J Dent Res.* 2009 Jan-Mar;20(1):37-40.
39. Karasneh J, Ababneh KT, Taha AH, Al-Abbadi MS, Ollier WE. Investigation of the interleukin-1 gene cluster polymorphisms in Jordanian patients with chronic and aggressive periodontitis. *Arch Oral Biol.* 2011 Mar;56(3):269-76.
40. Karimbux NY, Saraiya VM, Elangovan S, Allareddy V, Kinnunen T, Kornman KS, Duff GW. Interleukin-1 gene polymorphisms and chronic periodontitis in adult whites: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol.* 2012 Nov;83(11):1407-19.
41. Kinane DF, Hart TC. Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2003;14(6):430-49.
42. Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, Wilson TG Jr, Higginbottom FL, Duff GW. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1997 Jan;24(1):72-7.
43. Laine ML, Crielaard W, Loos BG. Genetic susceptibility to periodontitis. *Periodontol 2000.* 2012 Feb;58(1):37-68.
44. Laine ML, Loos BG, Crielaard W. Gene polymorphisms in chronic periodontitis. *Int J Dent.* 2010;2010:324719.
45. Laine ML, Crielaard W, Loos BG. Genetic susceptibility to periodontitis. *Periodontology 2000* 2012 Feb;58(1):37-68.
46. Lang NP, Tonetti MS, Suter J, Sorrell J, Duff GW, Kornman KS. Effect of interleukin-1 polymorphisms on gingival inflammation assessed by bleeding on

- probing in a periodontal maintenance population. *J Periodont Res* 2000;35:102-107
47. Lang, NP., Bartold, PM., Culliam, M., Jeffcoat, M., Mombelli, A., Murakami S., Page, R., Papapanou, P., Tonetti, M. & Van Dyke T. (1999). International Classification Workshop. Consensus report: Agressive periodontitis. *Annals os Periodontology* 4, 53
  48. Lindhe J; Lang NP; Karring T. Tratado de periodontia clínica e Implantologia Oral. Guanabara koogan; 5ª edição 2010
  49. Loe H, Brown LJ. Early onset periodontitis in the United States of America. *Journal of Periodontology*. 1991 Oct;62(10):608-16.
  50. Loe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. *Journal of Clinical Periodontology* . 1986 May;13(5):431-45.
  51. López NJ, Jara L, Valenzuela CY. Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease. *J Periodontol*. 2005 Feb;76(2):234-43.
  52. Mao M, Zeng XT, Ma T, He W, Zhang C, Zhou J. Interleukin-1 $\alpha$  -899 (+4845) C→T polymorphism increases the risk of chronic periodontitis: evidence from a meta-analysis of 23 case-control studies. *Gene*. 2013 Dec 10;532(1):114-9.
  53. Marazita ML, Burmeister JA, Gunsolley JC, Koertge TE, Lake K, Schenkein HA. Evidence for autosomal dominant inheritance and race-specific heterogeneity in early-onset periodontitis. *Journal of Periodontology*. 1994 Jun;65(6):623-30.
  54. McDevitt MJ1, Wang HY, Knobelman C, Newman MG, di Giovine FS, Timms J, Duff GW, Kornman KS. Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice. *J Periodontol*. 2000 Feb;71(2):156-63.
  55. Meisel P, Schwahn C, Gesch D, Bernhardt O, John U, Kocher T. Dose-effect relation of smoking and the interleukin-1 gene polymorphism in periodontal disease. *J Periodontol*. 2004 Feb;75(2):236-42.
  56. Meisel P, Siegemund A, Dombrowa S, Sawaf H, Fanghaenel J, Kocher T. Smoking and polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-1RN) in patients with periodontal disease.
  57. Michalowicz BS, Wolff LF, Klump D, Hinrichs JE, Aeppli DM, Bouchard TJ Jr, et al. Periodontal bacteria in adult twins. *J Periodontol*. 1999 Mar;70(3):263-73.

58. Michalowicz BS, Aeppli D, Virag JG, Klump DG, Hinrichs JE, Segal NL, Bouchard TJ Jr, Pihlstrom BL. Periodontal findings in adult twins. *Journal of Periodontology*. 1991 May;62(5):293-9.
59. Michalowicz BS, Diehl SR, Gunsolley JC, Sparks BS, Brooks CN, Koertge TE, Califano JV, Burmeister JA, Schenkein HA. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2000 Nov;71(11):1699-707
60. Moreira PR, Costa JE, Gomez RS, Gollob KJ, Dutra WO. The IL1A (-889) gene polymorphism is associated with chronic periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *J Periodontal Res*. 2007 Feb;42(1):23-30.
61. Moreira PR, de Sá AR, Xavier GM, Costa JE, Gomez RS, Gollob KJ, Dutra WO. A functional interleukin-1 beta gene polymorphism is associated with chronic periodontitis in a sample of Brazilian individuals. *J Periodontal Res*. 2005 Aug;40(4):306-11.
62. Nares, S (2003) The genetic relationship to periodontal disease. *Periodontology* 2000 32 36-49.
63. Nicklin MJ, Barton JL, Nguyen M, FitzGerald MG, Duff GW, Kornman K. A sequence-based map of the nine genes of the human interleukin-1 cluster. *Genomics*. 2002 May;79(5):718-25.
64. Nikolopoulos GK, Dimou NL, Hamodrakas SJ, Bagos PG. Cytokine gene polymorphisms in periodontal disease: a meta-analysis of 53 studies including 4178 cases and 4590 controls. *J Clin Periodontol*. 2008 Sep;35(9):754-67.
65. Papapanou PN, Neiderud AM, Sandros J, Dahlén G. Interleukin-1 gene polymorphism and periodontal status. A case-control study. *J Clin Periodontol*. 2001 May;28(5):389-96.
66. Petit MD, van Steenberghe TJ, Timmerman MF, de Graaff J, van der Velden U. Prevalence of periodontitis and suspected periodontal pathogens in families of adult periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology*. 1994 Feb;21(2):76-85.
67. Preus HR, Zambon JJ, Dunford RG, Genco RJ. The distribution and transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in families with established adult periodontitis. *J Periodontol*. 1994 Jan;65(1):2-7.

68. Prince JA, Wright JT, Kula K, Bowden DW, Hart TC (1998). A common DLX3 gene mutation is responsible for tricho-dentoosseous syndrome in Virginia and North Carolina families. *Med Genet* 35:825-828.
69. Saarela M, von Troil-Lindén B, Torkko H, Stucki AM, Alaluusua S, Jousimies-Somer H, Asikainen S. Transmission of oral bacterial species between spouses. *Oral Microbiol Immunol*. 1993 Dec;8(6):349-54.
70. Sakellari D, Katsares V, Georgiadou M, Kouvatsi A, Arsenakis M, Konstantinidis A. No correlation of five gene polymorphisms with periodontal conditions in a Greek population. *J Clin Periodontol*. 2006 Nov;33(11):765-70. Epub 2006 Aug 14.
71. Sakellari D, Koukoudetsos S, Arsenakis M, Konstantinidis A. A Prevalence of IL-1A and IL-1B polymorphisms in a Greek population. *J Clin Periodontol*. 2003 Jan;30(1):35-41.
72. Santtila S, Savinainen K, Hurme M. Presence of the IL-1RA allele 2 (IL1RN\*2) is associated with enhanced IL-1beta production in vitro. *Scand J Immunol*. 1998 Mar;47(3):195-8.
73. Shirodaria S, Smith J, McKay IJ, Kennett CN, Hughes FJ. Polymorphisms in the IL-1A gene are correlated with levels of interleukin-1alpha protein in gingival crevicular fluid of teeth with severe periodontal disease. *J Dent Res*. 2000 Nov;79(11):1864-9.
74. Socransky SS, Haffajee AD, Goodson JM, Lindhe J. New concepts of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1984 Jan; 11(1):21-32.
75. Stabholz A, Soskolne WA, Shapira L. Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontol* 2000. 2010 Jun;53:138-53.
76. Symons JA, Young PR, Duff GW. The soluble type II interleukin-1 (IL-1) receptor binds and blocks processing of IL-1 $\beta$  (precursor and loses affinity for IL-1 receptor antagonist. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:1714-8.
77. Taba M Jr, Souza SL, Mariguela VC. Periodontal disease: a genetic perspective. *Braz Oral Res*. 2012;26 Suppl 1:32-8.
78. Taylor JJ, Preshaw PM, Donaldson PT. Cytokine gene polymorphism and immunoregulation in periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2004;35:158-82.
79. Tonetti MS, Mombelli A. Early-onset periodontitis. *Ann Periodontol*. 1999 Dec;4(1):39-53.

80. Trevilatto PC, de Souza Pardo AP, Scarel-Caminaga RM, de Brito RB Jr, Alvim-Pereira F, Alvim-Pereira CC, Probst CM, Garlet GP, Sallum AW, Line SR. Association of IL1 gene polymorphisms with chronic periodontitis in Brazilians. *Arch Oral Biol.* 2011 Jan;56(1):54-62.
81. Trott JR, Cross HG. An analysis of the principle reasons for tooth extractions in 1813 patients in Manitoba. *The Dental Practitioner and Dental Record.* 1966 Sep;17(1):20-7.
82. Vijayalakshmi R, Geetha A, Ramakrishnan T, Emmadi P. Genetic polymorphisms in periodontal diseases: An overview. *Indian J Dent Res* 2010; 21:568-74.
83. Wagner J, Kaminski WE, Aslanidis C, Moder D, Hiller KA, Christgau M, Schmitz G, Schmalz G. Prevalence of OPG and IL-1 gene polymorphisms in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2007 Oct;34(10):823-7. Epub 2007 Aug 17.
84. Yoshie H, Kobayashi T, Tai H, Galicia JC. The role of genetic polymorphisms in periodontitis. *Periodontol 2000.* 2007;43:102-32.
85. Zhang J, Sun X, Xiao L, Xie C, Xuan D, Luo G. Gene polymorphisms and periodontitis. *Periodontol 2000.* 2011 Jun;56(1):102-24.
86. Zuccarello D, Bazzato MF, Ferlin A, Pengo M, Frigo AC, Favero G, Foresta C, Stellini E. Role of familiarity versus interleukin-1 genes cluster polymorphisms in chronic periodontitis. *Gene.* 2014 Feb 10;535(2):286-9.

## **Anexos**

### **Anexo 1: Critérios de inclusão e de exclusão**

<b>Critérios de inclusão</b>	<b>Critérios de exclusão</b>
Estudos realizados em pacientes com periodontite crónica.	Estudos realizados em pacientes com periodontite agressiva e peri-implantites.
Resultados que relacionassem o genótipo da IL-1 com a doença periodontal.	Resultados que relacionassem o genótipo de outros genes com a doença periodontal.
Estudos realizados com Humanos.	Estudos realizados com animais ou in vitro.